

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

CÁTIA NARA TOBALDINI FRIZON

**PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, SENSORIAIS E ESTABILIDADE  
DE UMA NOVA BEBIDA CONTENDO EXTRATO DE ERVA-MATE  
(*Ilex paraguariensis* St. Hil.) E SOJA (*Glycine max*)**

CURITIBA  
2011

CÁTIA NARA TOBALDINI FRIZON

**PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, SENSORIAIS E ESTABILIDADE  
DE UMA NOVA BEBIDA CONTENDO EXTRATO DE ERVA-MATE  
(*Ilex paraguariensis* St. Hil.) E SOJA (*Glycine max*)**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação  
em Tecnologia de Alimentos, Setor de Tecnologia,  
Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à  
obtenção do título de Mestre em Tecnologia de Alimentos.

Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Rosemary Hoffmann Ribani

CURITIBA  
2011


---

**CÁTIA NARA TOBALDINI FRIZON**


**PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS, SENSORIAIS E  
ESTABILIDADE DE UMA NOVA BEBIDA CONTENDO EXTRATO  
DE ERVA-MATE (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) E SOJA**

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre no Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos, da Universidade Federal do Paraná, pela Comissão formada pelos professores:

Orientadora:

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. ROSEMARY HOFFMANN RIBANI  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. LUCIANA PORTO DE SOUZA VANDENBERGHE  
Setor de Tecnologia, UFPR

  
Dr.<sup>a</sup>. SÔNIA CACHOEIRA STERTZ  
Setor de Tecnologia, UFPR

Curitiba, 15 de março de 2011.

## *Dedico*

Este trabalho a Deus, a minha família e  
a todos que me apoiaram nesta fase de  
crescimento pessoal e profissional.

## *AGRADECIMENTOS*

Em primeiro lugar quero agradecer a Deus, por abençoar a minha caminhada, por ter me dado a oportunidade de estudar e crescer como profissional e ser humano, aprendendo com os erros, angústias e possibilitando a conquista de vitórias, seja no âmbito pessoal ou profissional.

À Universidade Federal do Paraná (UFPR), ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PPGTA);

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela bolsa de mestrado;

A EMBRAPA-FLORESTAS pelo financiamento do projeto de pesquisa;

À professora Dr<sup>a</sup> Rosemary Hoffmann Ribani, minha orientadora, que me ensinou os primeiros passos do mundo da pesquisa, obrigada pela oportunidade concedida, aprendizado e confiança;

Aos membros da banca, Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Luciana Vandenberghe e a Dr.<sup>a</sup> Sônia Cachoeira Stertz, por terem aceitado participar da avaliação deste trabalho.

À empresa OLVEBRA INDUSTRIAL S.A, pelo fornecimento do extrato de soja (SHS) utilizado nesta pesquisa;

À empresa CP KELCO BRASIL S/A pelo fornecimento da Goma Gelana HS-B utilizada nesta pesquisa;

Às pessoas que participaram da análise sensorial, pela colaboração;

Aos funcionários da Universidade Federal do Paraná, pela cooperação.

A Fabiana L. G. Dutra, pelo auxílio sempre presente, obrigada pela disposição;

Aos meus colegas pela companhia, amizade e incentivo em todos os momentos;

A minha família, por todo o apoio e pela ajuda na realização deste trabalho;

A todos aqueles que de alguma maneira colaboraram nesta etapa de crescimento profissional e pessoal.

**MUITO OBRIGADA!**

*Cátia Nara Tobaldini Frizon*

*“Na natureza se encontra a cura de todos os  
males, cabe a nós pesquisar e preservar”*

## RESUMO

A erva-mate (*Ilex paraguariensis*) tem importante papel social, econômico e cultural com destaque para os estados do Sul do Brasil, explorada por pequenos produtores e comercializada por indústrias produtoras de erva-mate. É conhecida por conter compostos fenólicos que atuam como antioxidantes, como a rutina e o ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA) e propriedade estimulante atribuída ao seu conteúdo de alcalóides metilxantínicos, tais como a cafeína e teobromina. Este estudo tem como objetivo oferecer novas alternativas para o consumo de erva-mate através do desenvolvimento de formulações de bebida com extrato de erva-mate. Das duas progênie de erva-mate A7 e F1 coletadas na Embrapa-Florestas as quais apresentam maior massa foliar, foram preparados os extratos aquosos, para a elaboração das seis bebidas de erva-mate de cada progênie. Foram avaliadas suas características microbiológicas e sensoriais, a fim de selecionar as duas bebidas de melhor aceitação. Nas matérias-primas (erva-mate), nos extratos aquosos e nas bebidas de melhor aceitação foram avaliadas as características físico-químicas. Os resultados mostraram que a composição centesimal das matérias-primas foi similar entre as amostras, os compostos fenólicos, 5-CQA (19,32 mg/g), rutina (8,61 mg/g) e ácido cafeico (0,09 mg/g) mostraram-se superiores na amostra A7, no entanto a amostra F1 foi superior em relação aos valores de metilxantinas, teobromina (0,48 mg/g) e cafeína (5,04 mg/g). Os extratos aquosos não diferiram estatisticamente entre si nos teores obtidos para análise da composição centesimal, compostos fenólicos e metilxantinas, já em relação à atividade antioxidante o extrato A7 apresentou resultados superiores pelo método ABTS (14,15  $\mu$ M Trolox/mL de extrato) e DPPH (IC<sub>50</sub> 37,03 mL/g DPPH) em relação ao extrato F1. A bebida mais bem aceita A7b, com escore variando de 6,4 a 7,0, apresentou menor teor de cafeína (0,04 mg/mL) e 5-CQA (0,18 mg/mL) frente aos valores obtidos na bebida F1c, de 0,18 mg/mL de cafeína e 0,25 mg/mL de 5-CQA que também apresentou maior atividade antioxidante pelos métodos, DPPH (IC<sub>50</sub> 92,83 mL/g DPPH) e ABTS (8,18  $\mu$ M Trolox/mL bebida F1c). Quanto a expressão da cor nas coordenadas a\*, b\* do CIELab as matérias-primas, os extratos e as bebidas apresentaram diferença significativa, porém para a coordenada L\* as matérias-primas não diferiram estatisticamente entre si, bem como as bebidas. O resultado da avaliação das bebidas selecionadas durante o armazenamento, demonstrou que o processamento foi eficiente para obtenção de bebida com aceitação sensorial e comprovada estabilidade dos parâmetros pH, acidez, viscosidade, compostos fenólicos e análise microbiológica durante o período de 120 dias de armazenamento sob refrigeração.

**Palavras chave:** Composição centesimal, compostos fenólicos, metilxantinas, atividade antioxidante, extrato hidrossolúvel de soja

## ABSTRACT

*Yerba mate* (*Ilex paraguariensis*) plays an important social, economical and cultural role in the south of Brazil, being harvested by small producers and processed/sold by the *yerba mate* industry. This plant contains phenolic compounds which act as antioxidants, like rutin and 5-caffeoylquinic acid. In addition, *yerba mate* presents stimulant effects due to the presence of methylxantine alkaloids, like caffeine and theobromine. This study aimed at offering new alternatives for *yerba mate* consumption through the development of *yerba mate*-based beverage formulations. Six formulations were prepared for each one of the progenies studied, namely A7 and F1, which were developed by Embrapa-Florestas and present higher foliaceous mass. The beverages were enriched with water-soluble soy extract, which is a protein source. At the lab, the beverages were evaluated for their microbiological and sensory characteristics in order to select the two most preferred formulations. In addition, the physical-chemical properties of the raw materials, the *yerba mate* aqueous extracts and the preferred formulations were measured. Results showed that the proximate composition of the two studied progenies was similar, while phenolics, 5-caffeoylquinic acid (19.32 mg/g), rutin (8.61 mg/g) and caffeic acid (0.09 mg/g) were found in higher levels in progeny A7. On the other hand, progeny A1 presented higher levels of methylxantines, theobromine (0.48 mg/g) and caffeine (5.04 mg/g). The *yerba mate* aqueous extracts presented similar proximate composition ( $p < 0.05$ ), phenolics content and methylxantines content. Although, extract made from progeny A7 presented higher antioxidant capacity as measured through the use of the ABTS (14,15  $\mu\text{M}$  of Trolox/mL of extract) and the DPPH ( $\text{IC}_{50}$  of 37,03 mL/g DPPH) methods. The most accepted formulation was the one named F1, which presented sensory scores varying between 6.4 and 7.0. Formulation A7c presented higher antioxidant capacity, higher caffeine content (0.18 mg/mL) and higher 5-caffeoylquinic acid content (0.25 mg/mL) than formulation A7b (0.04 mg/mL and 0.18 mg/mL, respectively). The color analysis, performed by using the CIE  $L^*a^*b^*$  scale, showed that beverages and raw materials presented different redness ( $a^*$ ) and yellowness ( $b^*$ ) parameters, while lightness ( $L^*$ ) was found to be similar. A shelf stability test showed that the most preferred beverages presented shelf stable pH, acidity, viscosity, phenolic content and microbiological counts during 120 days of refrigerated storage.

**Keywords:** proximate composition, phenolic compounds, methylxantines, antioxidant activity, water-soluble soy extract.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>FIGURA 1</b> - CLASSIFICAÇÃO CIENTÍFICA DA <i>Ilex paraguariensis</i> .....	18
<b>FIGURA 2</b> – ESQUEMA SIMPLIFICADO DOS GRUPOS DE METABÓLITOS PRIMÁRIOS E SECUNDÁRIOS NAS PLANTAS .....	20
<b>FIGURA 3</b> - PRINCIPAIS VIAS DO METABOLISMO SECUNDÁRIO E SUAS INTERLIGAÇÕES .....	21
<b>FIGURA 4</b> - ESTRUTURA MOLECULAR: 1 – CAFEÍNA; 2 – TEOBROMINA E 3 - TEOFILINA.....	21
<b>FIGURA 5</b> - ESTRUTURA GENÉRICA DAS PRINCIPAIS CLASSES DOS FLAVONÓIDES.....	23
<b>FIGURA 6</b> - ESTRUTURA QUÍMICA DA RUTINA.....	24
<b>FIGURA 7</b> - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÁCIDO CAFEICO E DO ÁCIDO 5- CAFEOLQUÍNICO.....	24
<b>FIGURA 8</b> - DIAGRAMA DAS ANÁLISES QUE FORAM REALIZADAS NAS DIFERENTES FASES DA PESQUISA PARA AS DUAS PROGÊNIES DE ERVA-MATE, EXTRATOS AQUOSOS E BEBIDAS OBTIDAS .....	34
<b>FIGURA 9</b> - EXTRATO AQUOSOS A7 E F1 .....	35
<b>FIGURA 10</b> - DIAGRAMA REPRESENTANDO O ESPAÇO DE CORES CIELAB ...	39
<b>FIGURA 11</b> - ÍNDICE DE ACEITABILIDADE EM RELAÇÃO À FREQUENCIA DOS VALORES HEDÔNICOS ATRIBUÍDOS AS SEIS BEBIDAS ELABORADAS PARA CADA PROGÊNIE DE ERVA-MATE 9 ( GOSTEI MUITÍSSIMO) E 1 (DESGOSTEI MUITÍSSIMO) E O TESTE DE INTENÇÃO DE COMPRA COM AVALIAÇÃO VARIANDO DE 1 (CERTAMENTE COMPRARIA) E 5 (CERTAMENTE NÃO COMPRARIA).....	45
<b>FIGURA 12</b> - BEBIDAS DE MAIOR ACEITAÇÃO SENSORIAL, A7b E F1c .....	46
<b>FIGURA 13</b> - VARIAÇÃO DO pH E ACIDEZ DURENTE A ESTOCAGEM DAS BEBIDAS SOB REFRIGERAÇÃO (4°C).....	54
<b>FIGURA 14</b> - VARIAÇÃO DA VISCOSIDADE DURANTE A ESTOCAGEM DAS BEBIDAS SOB REFRIGERAÇÃO (4°C).....	55

**FIGURA 15** – ÍNDICE DE ACEITABILIDADE EM RELAÇÃO A FREQUENCIA DOS VALORES HEDÔNICOS ATRIBUÍDOS ÀS BEBIDAS A7b E F1c DURANTE O TEMPO DE ARMAZENAMENTO 9 (GOSTEI MUITISSIMO E 1 (DESGOSTEI MUITISSIMO) .....58

## LISTA DE TABELAS

<b>TABELA 1 – COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA ERVA-MATE.....</b>	<b>19</b>
<b>TABELA 2 - CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS UTILIZADAS NA FORMULAÇÃO DAS BEBIDAS.....</b>	<b>36</b>
<b>TABELA 3 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA ERVA-MATE A7 E F1 E DADOS DE OUTROS TRABALHOS.....</b>	<b>47</b>
<b>TABELA 4 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DOS EXTRATOS AQUOSOS DE ERVA-MATE, DAS BEBIDAS ELABORADAS E BEBIDAS COMERCIAIS COM SOJA .....</b>	<b>48</b>
<b>TABELA 5 - VALORES MÉDIOS DAS MEDIDAS DE COR L*, a* E b* PELO SISTEMA CIELAB.....</b>	<b>49</b>
<b>TABELA 6 - TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS E METILXANTINAS NA ERVA-MATE E DERIVADOS .....</b>	<b>51</b>
<b>TABELA 7 - TEORES DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (ABTS<sup>•+</sup> E DPPH<sup>•</sup>) NA ERVA-MATE, EXTRATOS E BEBIDAS A BASE DE ERVA-MATE E SOJA.....</b>	<b>52</b>
<b>TABELA 8 - TEOR DOS COMPOSTOS FENÓLICOS NAS BEBIDAS A7b E F1c DURANTE OS 120 DIAS DE ARMAZENAMENTO .....</b>	<b>56</b>
<b>TABELA 9 - AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS BEBIDAS A7b E F1c DURANTE O ARMAZENAMENTO DE 120 DIAS .....</b>	<b>57</b>

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	14
1.1 OBJETIVO GERAL	15
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	17
2.1 ERVA-MATE ( <i>Ilex paraguariensis</i> St. Hil.)	17
2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA ERVA-MATE	18
2.2.1 Metabólitos secundários	19
2.3 PROPRIEDADES BIOATIVAS DA ERVA-MATE	25
2.4 SOJA ( <i>Glycine max</i> )	26
2.4.1 Composição química da soja	26
2.4.2 Propriedades bioativas do grão de soja	27
2.4.3 Extrato hidrossolúvel de soja	28
2.5 IMPORTÂNCIA DE BEBIDA EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS	29
2.6 ANÁLISE SENSORIAL	30
2.7 VIDA DE PRATELEIRA	31
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b>	32
3.1 MATERIAL	32
3.1.1 Amostras	32
3.1.2 Reagentes	32
3.2 MÉTODOS	33
3.2.1 Preparo dos extratos aquosos	34
3.2.2 Desenvolvimento das formulações das bebidas	35
3.3 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS BEBIDAS	37
3.4 AVALIAÇÃO SENSORIAL DAS BEBIDAS	37
3.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA ERVA-MATE, DOS EXTRATOS AQUOSOS E DAS BEBIDAS SELECIONADAS	38
3.5.1 Determinação da composição centesimal	38
3.5.2 Análise da cor	38
3.5.3 Compostos bioativos	39
3.5.3.1 Quantificação dos compostos fenólicos	39
3.5.3.2 Quantificação de metilxantinas	40

3.5.4 Determinação da atividade antioxidante.....	40
3.5.4.1 Método do radical ABTS <sup>•+</sup> .....	41
3.5.4.2 Método do radical DPPH <sup>•</sup> .....	41
3.5.5 ESTABILIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO DAS BEBIDAS SELECIONADAS .....	42
3.5.5.1 pH, acidez e viscosidade das bebidas durante a estocagem .....	42
3.5.5.2 Análise da estabilidade dos compostos fenólicos durante o armazenamento .....	42
3.5.6 Avaliação microbiológica e análise sensorial das bebidas durante a estocagem .....	42
3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	43
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	44
4.1 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL DAS SEIS BEBIDAS DE CADA PROGÊNIE DE ERVA-MATE.....	44
4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA ERVA-MATE, EXTRATOS AQUOSOS E DAS BEBIDAS SELECIONADAS .....	46
4.2.1 Determinação da composição centesimal.....	46
4.2.2 Análise da cor.....	49
4.2.3 Compostos bioativos nas matérias-primas, extratos aquosos e nas bebidas selecionadas .....	50
4.2.4 Determinação da atividade antioxidante.....	52
4.3 ESTABILIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO DAS BEBIDAS SELECIONADAS .....	53
4.3.1 pH, acidez e viscosidade das bebidas durante a estocagem.....	54
4.3.2 Compostos fenólicos durante o armazenamento .....	56
4.4 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E ANÁLISE SENSORIAL DAS BEBIDAS DURANTE A ESTOCAGEM.....	56
4.4.1 Avaliação microbiológica .....	57
4.4.2 Avaliação sensorial .....	57
<b>5. CONCLUSÕES</b> .....	59
<b>REFERÊNCIAS</b> .....	60
<b>APÊNDICES</b> .....	73
<b>ANEXOS</b> .....	77

## 1. INTRODUÇÃO

Da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) se produz uma bebida popularmente conhecida como chimarrão, amplamente consumido pela população da América do Sul. Devido aos efeitos benéficos à saúde humana, a erva-mate tornou-se popular na Europa e EUA, sendo indicada entre outras aplicações para o tratamento da obesidade (CARDUCCI et al., 2000). Contêm vários constituintes químicos, sendo os principais os alcalóides metilxantínicos, principalmente a cafeína (GNOATTO et al., 2007a); substâncias glicosídicas como as saponinas (SCHERER et al., 2006) e compostos fenólicos (flavonóides, ácido cafeico e os ácidos clorogênicos) conhecidos pela sua bioatividade e capacidade antioxidante no organismo humano (NACZK; SHAHIDI, 2006).

Os componentes químicos presentes nas folhas de erva-mate, com inúmeras propriedades, têm estimulado o desenvolvimento de novos produtos, usos e aplicações industriais. O mercado em ascensão de bebidas a base de chá-mate e suas variadas apresentações apontam para a possibilidade de ampliação e diversificação de produtos, por exemplo, dos extratos de erva-mate.

A soja (*Glycine max*) e seus derivados se destacam pelas suas características químicas e nutricionais que os qualificam como fonte de proteína de alta qualidade (SILVA et al., 2006) e pela presença de compostos bioativos, como as isoflavonas, que têm sido largamente estudadas quanto aos seus efeitos biológicos benéficos à saúde humana, tais como atividade estrogênica, antiestrogênica e anticarcinogênica (LUI et al., 2003).

A partir da soja, diversos produtos foram desenvolvidos como, por exemplo, o extrato hidrossolúvel de soja (EHS) que adicionado de forma apropriada resulta em produtos alimentícios menos calóricos, com proteína de boa qualidade nutricional, além de preservar as características físicas e sensoriais em relação ao produto tradicional (GENOVESE; LAJOLO, 2001). Para muitas pessoas intolerantes ao leite de vaca, o EHS tem sido utilizado para substituir o leite de vaca (FAO, 1992). Além disso, o extrato de soja possui ampla aplicação na indústria alimentícia, podendo ser consumido na forma de bebida ou utilizado como ingrediente em produtos (CABRAL, 1997).

Levando em conta essas considerações, uma nova possibilidade para a utilização dos compostos fenólicos encontrados na erva-mate é a elaboração de bebida enriquecida com extrato hidrossolúvel de soja, fonte de proteína. Este produto seria capaz de agregar elementos nutricionais e antioxidantes de grande relevância à dieta humana, aumentando a oferta de novos produtos e sabores com erva-mate, popularizando seu consumo e contribuindo para a fixação do produtor ao campo.

### 1.1 OBJETIVO GERAL

Elaborar uma bebida estável do extrato de erva-mate, adicionada em diferentes níveis ao extrato hidrossolúvel de soja.

### 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir extrato de erva-mate de duas procedências que se destacaram em produção de biomassa foliar em um teste combinado de procedência e progênie, pertencente à rede coordenada pela Embrapa Florestas;
- Para o extrato obtido de cada progênie, elaborar bebidas com três níveis de extrato de erva-mate para dois níveis de soja, perfazendo seis amostras de bebida por progênie;
- Aplicar testes sensoriais de aceitabilidade e atitude de compra para selecionar as duas melhores formulações;
- Analisar por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) os compostos fenólicos (ácido cafeico, ácido 5-cafeoilquínico, rutina) e metilxantinas (cafeína, teobromina e teofilina) presentes nas amostras de erva-mate, nos extratos e nas bebidas aceitas sensorialmente;
- Avaliar a atividade antioxidante das amostras de erva-mate, dos extratos e das bebidas de melhor aceitação;

- Determinar as características físico-químicas da erva-mate, dos extratos e das bebidas de melhor aceitação;
- Armazenar as bebidas obtidas em condições controladas por quatro meses, verificando sua estabilidade por análises periódicas quanto às características microbiológicas e sensoriais e quanto ao conteúdo dos compostos fenólicos, pH, acidez e viscosidade.



## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 ERVA-MATE (*Ilex-paraguariensis* St. Hil.)

A erva-mate é uma árvore da família das aquifoliáceas, nativa da América do Sul, sendo encontrada em ervais nativos ou adensada, explorada por pequenos produtores que se reúnem em cooperativas para processá-la ou comercializá-la com grandes indústrias produtoras de erva-mate (BASTOS et al., 2007; HECK; MEJIA, 2007).

Os maiores produtores de erva-mate na América do Sul são Brasil, Paraguai e Argentina. Quanto à produção, a Argentina lidera em primeiro lugar, vindo em seguida o Brasil (MILOCA et al., 2006). É uma planta muito consumida nesses países no preparo de chimarrão (água quente) e tererê (água fria) e a erva torrada é usada para o preparo de chá-mate, bastante consumido na região Sudeste do Brasil (BASTOS et al., 2007).

O plantio no Brasil ocorre principalmente nos estados do Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina, Rio Grande do Sul e São Paulo (HECK; MEJIA, 2007). Entre esses estados produtores, o Paraná é o principal, responsável por 71,8% (156.563 toneladas) do total da produção nacional em 2009 e a maior parte da produção está centrada no município de São Mateus do Sul-PR, detendo 14,9% da produção nacional (IBGE, 2011).

A classificação botânica da erva-mate (Figura 1) foi feita pelo naturalista francês Auguste Saint Hilaire e foi registrada no Museu de História Natural de Paris com o nome de *Ilex paraguariensis* St. Hil. (FERRARI, 2006).

A atividade agrícola da erva-mate é de grande importância sócioeconômica na região Sul do Brasil, tornando-se parte da cultura local, de grande valor na fixação do homem ao campo, gerando inúmeros empregos diretos e indiretos e movimentando milhões de recursos por ano (VIDOR et al., 2002).

O melhoramento genético da cultura teve início na década de 70 na Argentina e na década de 90 no Brasil. Eles se concentraram nos teores dos compostos químicos da planta, melhoramento das características fitoquímicas de

interesse, maior conhecimento do potencial genético, adaptação, produção de massa foliar, resistência a pragas e doenças (RESENDE et al., 2000).

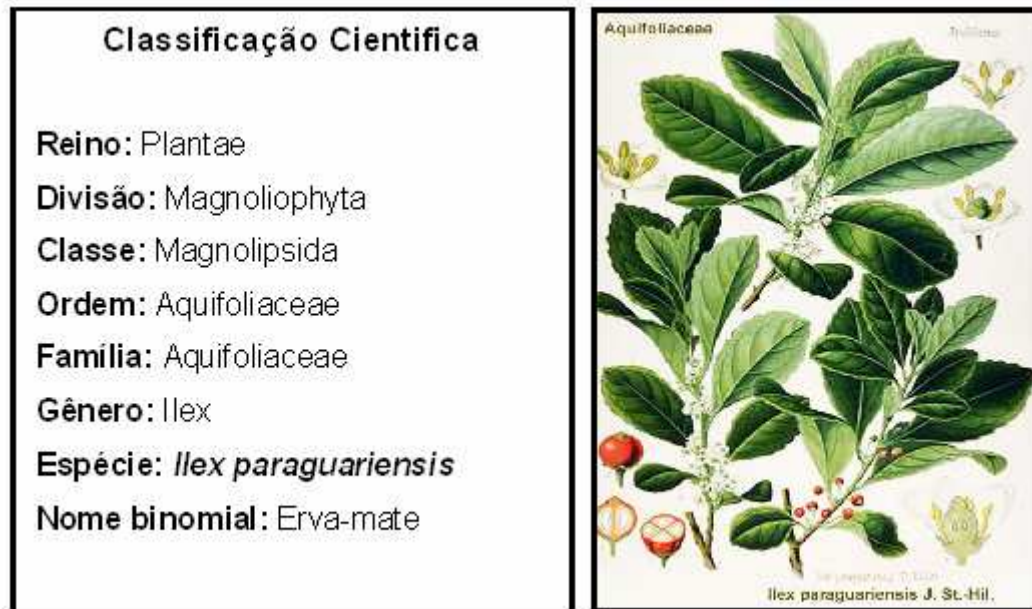


FIGURA 1 - CLASSIFICAÇÃO CIENTÍFICA DA *Ilex paraguariensis*  
 FONTE: FERRARI (2006) ADAPTADO

A época ideal para a poda de colheita para fins de bebida (chimarrão, chá) é no inverno, antes da nova brotação, normalmente entre maio e setembro, concentrando-se nos meses de junho a agosto (VALDUGA et al., 2003; MACCARI JR, 2005). Esta época permite maiores resultados em produtividade, melhor recuperação após a poda e melhor sabor do produto final (DA CROCE; FLOSS, 1999).

A erva-mate é a denominação popular utilizada tanto para a planta como para o produto, constituído exclusivamente pelas folhas. Esse produto é obtido por processo de secagem e fragmentação (MACCARI JR, 2005).

## 2.2 COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA ERVA-MATE

Alguns trabalhos mostram que a erva-mate apresenta em sua composição alcalóides metilxantínicos, substâncias glicosídicas como as saponinas, clorofila,

compostos fenólicos (GNOATTO et al., 2007b; ANDRADE, 2004; CARDOZO et al., 2007) além das vitaminas, componentes minerais, substâncias graxas, terpenos, substâncias aromáticas, álcoois, aldeídos, fenóis (VALDUGA, 1995).

A composição centesimal da erva-mate compreende as determinações de carboidratos, proteínas, lipídios, fibra alimentar, cinzas e umidade, apresentados na Tabela 1 segundo dados de vários autores. A grande variabilidade nos valores da composição química da erva-mate pode ser explicada em função das diferentes espécies, idade das árvores, clima, tempo de colheita, sistema de cultivo, solo, sazonalidade, região produtora, processo de produção e estocagem (LIN et al., 1998; ESMELINDRO et al., 2002).

Cardozo et al, (2007) encontraram diferenças significativas no teor das metixantinas e compostos fenólicos em 16 amostras de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em quatro regiões brasileiras, localizadas no interior do estado do Paraná.

TABELA 1 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA ERVA-MATE

Referência	Carboidratos /100g	Proteínas /100g	Lipídios /100g	Fibra alimentar	Cinzas /100g	Umidade /100g
Valduga, (1995) <sup>1</sup>	12,04	10,89	----	16,96	6,91	8,17
Esmelindro et al. (2002) <sup>1</sup>	51,64	14,49	6,76	21,10	6,01	----
Santos, (2004) <sup>3</sup>	28,46	9,25	4,33	52,39	5,47	----
Barboza (2006) <sup>2</sup>	----	11,59	3,21	47,79	6,26	7,99
Efing, et al (2009) <sup>1</sup>	----	2,08	10,91	----	5,51	11,23

<sup>1</sup> folhas de erva-mate base seca, <sup>2</sup> erva mate cancheada nova, <sup>3</sup> erva-mate chimarrão

### 2.2.1 Metabólitos secundários

As plantas produzem uma grande variedade de compostos químicos, os quais são divididos em dois grupos, metabólitos primários e secundários (Figura 2). Os metabólitos primários respondem pela sobrevivência do vegetal, exercendo função ativa nos processos de fotossíntese, respiração e assimilação de nutrientes, considerados essenciais à mesma, como as proteínas, carboidratos, lipídios e ácidos nucleicos (RAVEN et al., 2001; SANTOS, 2004) enquanto os metabólitos secundários apresentam distribuição restrita a uma espécie vegetal ou a um grupo

de espécies relacionadas, estando intimamente associados às estratégias de defesa das plantas e envolvidos na produção de cor ou aroma que atraem insetos polinizadores ou animais que espalham seus frutos. Sendo compostos de elevada diversidade e abundantes no reino vegetal, têm despertado interesse de pesquisadores, os quais vêem nos metabólitos secundários uma fonte promissora de constituintes químicos potencialmente úteis ao homem (SANTOS, 2004).

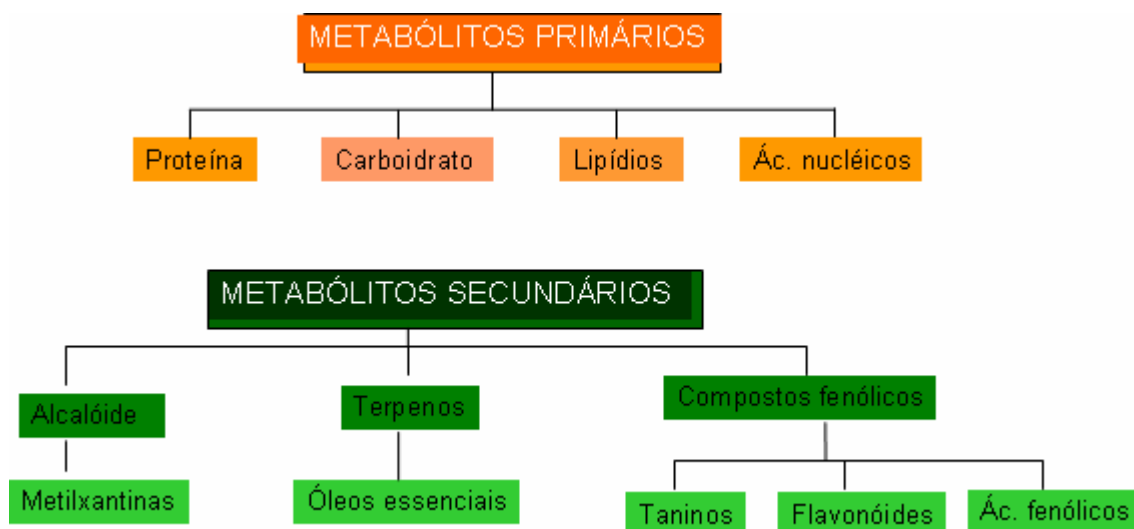


FIGURA 2 – ESQUEMA SIMPLIFICADO DOS GRUPOS DE METABÓLITOS PRIMÁRIOS E SECUNDÁRIOS NAS PLANTAS  
FONTE: SANTOS (2004) ADAPTADO

A biossíntese de metabólitos secundários está intimamente relacionada às condições ambientais. Estas condições promovem alterações tanto em rotas de síntese e degradação de compostos quanto na expressão gênica em resposta a algum tipo de estresse (WILT; MILLER, 1992; BADI et al. 2004), promovendo alterações no crescimento e na quantidade ou qualidade dos compostos secundários produzidos pelos vegetais (BADI et al. 2004).

Existem três grandes grupos de metabólitos secundários: a classe dos terpenos, que incluem os óleos essenciais, a classe dos compostos fenólicos, que envolve os taninos, flavonóides e ácidos fenólicos e a classe dos alcalóides, onde se encontram as metilxantinas (RAVEN et al., 2001). Os terpenos são construídos a partir do ácido mevalônico (no citoplasma) ou do piruvato e 3-fosfoglicerato (no cloroplasto). Os compostos fenólicos são derivados do ácido chiquímico ou ácido

mevalônico. Por fim, os alcalóides são derivados de aminoácidos aromáticos (triptofano, tirosina), os quais são derivados do ácido chiquímico, e também de aminoácidos alifáticos (lisina) (Figura 3) (TAIZ; ZEIGER, 2004).

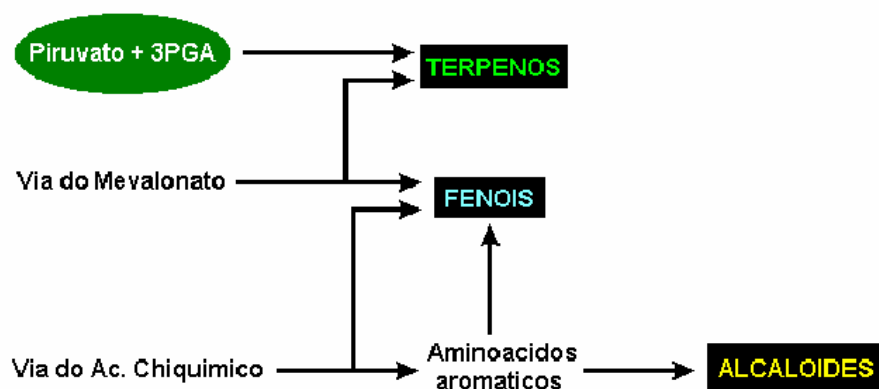


FIGURA 3 – PRINCIPAIS VIAS DO METABOLISMO SECUNDÁRIO E SUAS INTERLIGAÇÕES  
 FONTE: TAIZ; ZEIGER, (2004) ADAPTADO

As metilxantinas são uma das classes dos alcalóides, que podem ser encontradas em todas as partes de um vegetal. A cafeína (1,3,7-trimetilxantina), teobromina (3,7 dimetilxantina) e a teofilina (1,3 dimetilxantina), (Figura 4) são as metilxantinas frequentes na erva-mate. Dentre essas três classes, na erva-mate a cafeína é encontrada na maior concentração com até 2% do peso seco, seguido por teofilina, 0,9% e teobromina, 0,3% (ITO et al., 1997).

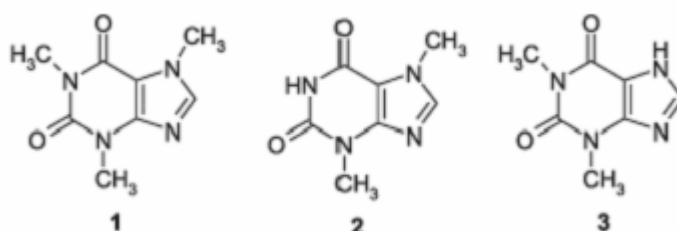


FIGURA 4 - ESTRUTURA MOLECULAR: 1 - CAFEÍNA; 2 - TEOBROMINA E 3 – TEOFILINA  
 FONTE: SALDANÃ et al. (1999)

O conteúdo de cafeína no consumo do chá mate (aproximadamente 150 mL) é em torno de 78 mg, menor que no consumo de café que fornece cerca de 85 mg

por porção. No entanto, a taxa habitual de consumo de mate preparado no método tradicional pode representar ingestão de cerca de 500 mL, resultando em mais de 260 mg de cafeína total (MAZZAFERA, 1997).

Em contraste com a teobromina e cafeína, teofilina, é encontrada apenas em pequenas quantidades nas folhas (ANDRADE, 2004). Isto tem sido explicado pelo fato de que a teofilina é um intermediário no catabolismo de cafeína na planta. Acredita-se que a principal via de metabolismo da teofilina envolve a conversão para 3-metilxantina, que depois é demetilada para xantina. Foi demonstrado que a teofilina marcada radioativamente, aparece na cafeína e teobromina através da síntese de cafeína (ITO et al., 1997).

Schmalko e Alzamora (2001) analisaram o teor de cafeína e clorofila em folhas de erva-mate após as etapas de secagem, mostrando uma diminuição drástica em cafeína (30%) e de clorofila (70% a 80%), no entanto, Bastos et al. (2006) mostraram que quando as folhas secas são utilizadas para preparo em infusões, significativamente mais cafeína e ácidos cafeoilquínicos são extraídos do que ao utilizar as folhas frescas. Este aumento dos compostos se explica pela extração melhorada provavelmente a partir da ruptura das células durante o processo de secagem, ou pela diminuição na concentração de umidade nas folhas e aumento dos sólidos solúveis durante a secagem, levando a uma maior quantidade de compostos dissolvidos pela infusão. Segundo Schubert et al. (2006) o tempo de colheita também influencia na concentração das metilxantinas, variando entre 1 e 10 mg metilxantinas/g erva-mate.

Os óleos essenciais, compostos por estrutura básica de isopreno, também exibem atividade antioxidante (MAU et al., 2003), podendo apresentar uma importante função antioxidante em produtos a base de erva-mate. Kawakami e Kobayashi (1991) estudaram o conteúdo de óleos essenciais em amostras de chimarrão do Brasil e identificaram os seguintes compostos em maior quantidade: furfural; ácido acético; linalol; ácido hexanoico, ácido octanoico e nonanoico.

Os compostos fenólicos apresentam em sua estrutura um anel aromático, com uma ou mais hidroxilas substituintes, variando desde moléculas fenólicas simples até compostos altamente polimerizados. A maioria dos compostos fenólicos ocorre complexados a carboidratos (mono e polissacarídeos), proteínas e outros componentes vegetais (ROBBINS, 2003), resultando em uma grande variedade destes, categorizados nas classes de ácidos fenólicos, flavonóides e taninos

(BALASUNDRAM et al., 2006). Os flavonóides, de maior ocorrência entre os compostos fenólicos (SCALBERT; WILLIAMSON, 2000), estão quase universalmente presentes nas plantas e são conhecidos por acumularem-se em todas as partes do vegetal como raízes, caule, folhas, flores e frutos (SIMÕES; SPITZER, 2000).

Sua estrutura química baseia-se num esqueleto de carbono  $C_6-C_3-C_6$  (difenílpropano), que consiste de dois anéis aromáticos (A e B) unidos por um anel heterocíclico oxigenado (C). Podem ser divididos em várias sub-classes (Figura 5), de acordo com o grau de insaturação e oxidação do anel C, que incluem flavanóis, flavanonas, antocianidinas, flavonas, isoflavonas e flavonóis (ROBBERS et al., 1997).

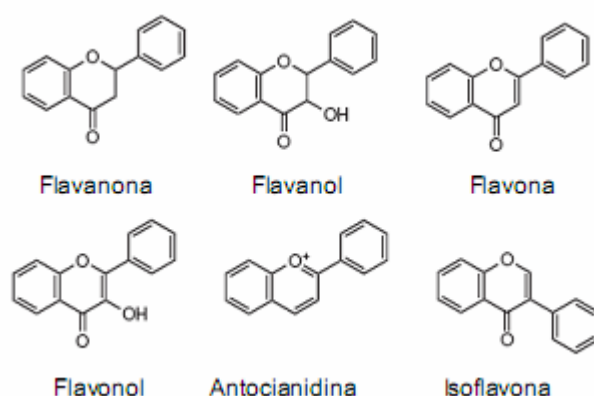


FIGURA 5 - ESTRUTURA GENÉRICA DAS PRINCIPAIS CLASSES DOS FLAVONÓIDES  
FONTE: SHAHIDI; NACZK (2004)

Os flavonóis são diferenciados dos demais flavonóides pela presença do grupo hidroxílico (na posição 3) e do grupo carbonílico (na posição 4), apresentando uma dupla ligação entre os carbonos 2 e 3 do anel C, ocorrem em alimentos geralmente como O-glicosídios, no qual um ou mais dos grupos hidroxila do flavonóide se ligam com mono, di ou trissacarídeos (ROBARDS; ANTOLOVICH, 1997). O flavonol glicosídico rutina (Figura 6), que é constituído pela quercetina associada a um dissacarídeo (6-O- $\alpha$ -L-ramnose-D-glucose) esta presente na erva-mate, e no chimarrão (HOFFMANN-RIBANI; RODRIGUEZ-AMAYA, 2006).

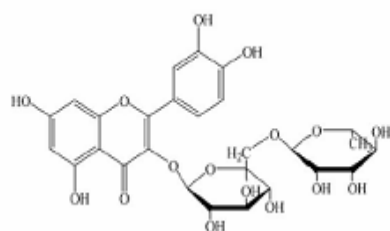


FIGURA 6 - ESTRUTURA QUÍMICA DA RUTINA  
FONTE : RIZZO et al. (2006)

Os ácidos fenólicos estão subdivididos em dois grupos: os derivados do ácido hidroxibenzoico e os derivados do ácido hidroxicinâmico. Os derivados do ácido hidroxicinâmico são as principais classes desses compostos, possuem um anel aromático com uma cadeia carbônica, constituída por 3 carbonos ligada ao anel. Os ácidos p-cumárico, ferúlico, cafeico e sináptico são os exemplos mais comuns na natureza. Estes ácidos existem nas plantas, usualmente na forma de ésteres, a exemplo dos ácidos clorogênicos, formados pela esterificação do ácido quínico com um desses derivados (BRAVO,1998). Como o ácido 5-O-cafeoilquínico (ácido quínico esterificado ao ácido cafeico) (Figura 7), que é o mais relatado desta classe de compostos. A planta erva-mate apresenta elevada concentração de compostos do grupo do ácido hidroxicinâmico, com destaque para os derivados do ácido cafeico: ácido 5-cafeoilquínico, ácido 3,4-dicafeoilquínico, ácido 3,5-dicafeoilquínico e ácido 4,5-dicafeoilquínico (HECK et al., 2008; MARQUES; FARAH, 2009).

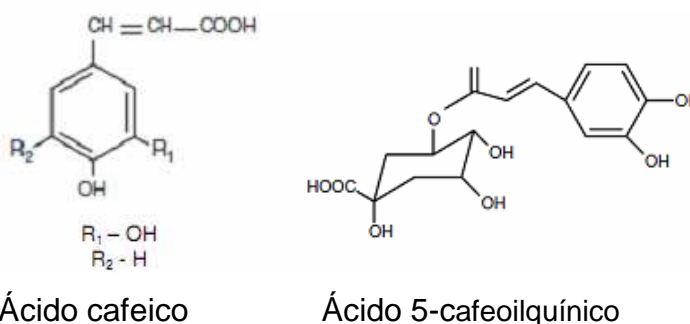


FIGURA 7 - ESTRUTURA QUÍMICA DO ÁCIDO CAFEICO E DO ÁCIDO 5-CAFEOLQUÍNICO  
FONTE: CLIFFORD; SCALBERT (1999)



### 2.3 PROPRIEDADES BIOATIVAS DA ERVA-MATE

Os efeitos positivos da ingestão da erva-mate em seres humanos estão relacionados com a presença de metilxantinas (cafeína, teobromina, teofilina) com várias propriedades farmacológicas, que incluem estimulação do sistema nervoso central, sobre o sistema cardiovascular e relaxamento do músculo liso (RATES, 2000).

A ingestão regular de chá mate pode proteger contra danos no DNA e aumentar a atividade de reparo do DNA, prevenir acidente vascular cerebral, câncer e doença crônico-degenerativa como as doenças cardiovasculares. A proteção pode ser atribuída à atividade antioxidante dos compostos bioativos no mate, como o ácido clorogênico, rutina, quercetina (BRACESCO et al, 2003; MIRANDA et al, 2008; PETERSON; DWYER, 1998).

Mosimann et al. (2006) e Lee (2007) estudando coelhos alimentados com uma dieta enriquecida com colesterol, observaram redução no teor do colesterol e tamanho das lesões na aorta destes animais quando estes também ingeriram extratos de *Ilex paraguariensis*, estes resultados incentivaram os estudos iniciais para verificar a forte proteção contra a oxidação do LDL, conferida pelo extrato de erva-mate, quer em vitro ou em vivo em seres humanos (GUGLIUCCI; STAHL, 1995).

Os extratos de *Ilex paraguariensis* são ricos especialmente em compostos da família dos ácidos clorogênicos (BASTOS et al, 2007) que também são importantes compostos fenólicos em café, morango, abacaxi, maçã, girassol e mirtilo. Os ácidos clorogênicos são sequestradores de radicais livres e metal, podendo interferir na absorção da glicose, modular a expressão gênica de enzimas antioxidantes entre outras atividades biológicas (CLIFFORD, 1999; OLTROF et al, 2001; JAISWAL et al, 2010). Estes resultados sugerem que o consumo regular de chá mate pode melhorar as defesas antioxidantes por múltiplos mecanismos, não só pelo aumento de circulação de compostos ativos, mas por aumento na regulação do mecanismo celular enzimático para combater estresse oxidativo.

De Moraes et al. (2009) trabalhando com uma população de 102 indivíduos observaram que a ingestão de chá de erva-mate, por um período de 40 dias, melhorou os parâmetros lipídicos nos indivíduos não lipidêmicos e dislipidêmicos da

população e proporcionou uma redução adicional do LDL-colesterol nos indivíduos hipercolesterolêmicos em tratamento com estatina, o que reduz o risco de doenças cardiovasculares. Segundo Gugliucci e Bastos (2009) e Gugliucci et al. (2009) o HDL carrega uma enzima antioxidante, paraoxonase1 (PON1) que protege o LDL de oxidações reduzindo a oxidação de macrófagos e assim passa a ser arteroprotetor. A atividade da PON1 pode ser significativamente reduzida pela oxidação do HDL pela ação do ácido hipocloroso (HOCl). O ácido hipocloroso é liberado por neutrófilos e macrófagos que ocorrem em lesões inflamatórias. Em estudos recentes estes autores mostraram que os ácidos clorogênicos, que são os principais em erva-mate, protegem a inativação PON1 do HDL em humanos causada pela concentração fisiológica de ácido hipocloroso.

Os flavonóis quercetina e rutina presentes nos extratos de erva-mate, que fazem parte da classe dos flavonóides, atuam na proteção contra a injúria celular causada pela oxidação do LDL, inibindo a oxidação da lipoproteína e protegendo as células dos danos citotóxicos causados pelo LDL oxidado (VISIOLI et al., 2000).

Bixby et al. (2005) realizaram um estudo comparativo em relação ao teor de polifenóis, em erva-mate, chá verde e vinhos, preparados conforme são geralmente consumidos. Encontraram em torno de 3 g/L para erva-mate sendo superior do vinho (1,5 g/L) e chá verde (<1,0 g/L). Canterle (2005), concluiu que bebidas a base de erva-mate pode ser benéfica à saúde visto sua comprovada atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* e outros efeitos fisiológicos.

De um modo geral, as folhas de erva-mate se destacam por seu elevado teor de compostos fenólicos e cafeína, que contribuem para ampliar o seu uso e aplicação industrial em diversos produtos (FILIP et al., 2000).

## 2.4 SOJA

### 2.4.1 Composição química da soja

A soja vem se expandindo de modo considerável na América do Sul, que produz próximo de 50% do total mundial, principalmente no Brasil, na Argentina e no

Paraguai. O Brasil ocupa a segunda posição na produção mundial e pode passar à primeira em futuro próximo, caso mantenha a atual tendência de crescimento (SEAB, 2011).

A sojicultura é uma das mais importantes atividades econômicas, fazendo do Paraná o segundo maior produtor de soja no Brasil em 2010, segundo a Secretaria de Estado da Agricultura e do Abastecimento (SEAB) alcançou o volume de 13,91 milhões de toneladas de soja, com rendimento médio de 3.182 kg/ha (SEAB, 2011).

A soja (*Glycine max*) é uma leguminosa composta de macronutrientes como, os lipídios, carboidratos e proteínas. A semente de soja contém cerca de 15% de gordura saturada, 61% dos gordura polisaturada, e 24% de gordura monosaturada na sua composição lipídica (USDA, 1979). Os carboidratos compõem cerca de 30% das sementes, com 15% de carboidratos solúveis (sacarose, rafinose, estaquiose) e 15% de insolúveis (fibra dietética). O teor de proteína de soja varia de 36% a 46% dependendo da variedade (GARCIA et al, 1997; GRIEHOP et al., 2003) sendo considerada uma fonte completa, uma vez que contém praticamente todos os aminoácidos essenciais e nutritivamente equivalente a proteína animal (VESLASQUEZ; BHATHENA, 2007).

A soja também contém micronutrientes, que incluem isoflavonas, fitatos, saponinas, fitoesterol, vitaminas e minerais. A soja é a única fonte na natureza que contém três tipos de isoflavonas, e cada tipo existe em quatro diferentes formas: as agliconas - (daidzeína, genisteína e gliciteína), as formas  $\beta$ -glicosídeo conjugada - (daidzina genistina, e glicitina), malonil-glicosídeo e as formas acetilglicosídeo (PARK et al., 2002; KAO et al., 2007).

A composição química e o conteúdo de isoflavonas na soja podem atingir mais de 3 mg/g em base seca e está relacionada com as condições ambientais, estresse biótico e abiótico, como as variações de temperatura, ataque de pragas ou condições de luz (WANG; MURPHY, 1994).

#### 2.4.2 Propriedades bioativas do grão de soja

A soja e seus derivados protéicos contém uma grande variedade de compostos fitoquímicos, os quais parecem exercer efeito anticarcinogênico

(MESSINA; LOPRENZI, 2001). Estão também associados a efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes, protegendo o organismo contra os danos causados pelos radicais livres (DURANTI, 2006).

As isoflavonas são uma das classes dos flavonóides que pertence ao grupo dos fitoquímicos, com ação no câncer ginecológico e alívio dos sintomas da menopausa em mulheres (HASLER, 1998). Sua capacidade antioxidante está relacionada ao número de grupos hidroxila presente na sua estrutura química. Naim et al. (1976) verificaram que a capacidade antioxidante das isoflavonas decresce com a glicosilação ou a substituição do grupo hidroxila pelo grupo metoxila. As isoflavonas podem inibir a peroxidação lipídica *in vitro* agindo como sequestradoras de radicais livres ou por atuarem como agentes quelantes de metais.

O consumo de soja tem sido também associado à redução de doenças cardiovasculares, manifestadas através de alterações lipídicas, como a diminuição do colesterol LDL e triacilgliceros, aumento do colesterol HDL; além de efeitos benéficos sobre a função endotelial e redução da pressão arterial (RIVAS et al., 2002).

#### 2.4.3 Extrato hidrossolúvel de soja

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) é o produto obtido a partir da emulsão aquosa resultante da hidratação dos grãos de soja, seguido de processamento tecnológico adequado, adicionado ou não de ingredientes opcionais permitidos, podendo ser submetido à desidratação total ou parcial (BRASIL, 1978). Assim como o grão de soja, o extrato de soja também apresenta um alto nível de proteínas com ótimo valor biológico, além de possuir vitaminas do complexo B, minerais como: cálcio, ferro, potássio, zinco, ácidos graxos e traços de isoflavonas. A composição química do extrato de soja pode variar de acordo com a matéria-prima e o processo utilizado na produção do mesmo (COWARD et al., 1998). Possui ampla aplicação na indústria alimentícia, podendo ser consumido como bebida misturada a outros extratos de frutas e vegetais, forma que está se tornando cada vez mais frequente no mercado consumidor nacional.

Mercadil (2006) desenvolveu bebida com suco concentrado de graviola e leite de soja, com o intuito de associar os benefícios nutracêuticos da soja e seus derivados. Felberg et al. (2009) elaboraram bebida à base de soja e castanha-do-brasil, concluindo que pode ser indicada por ser considerada uma alternativa para o consumo de alimento à base de soja, levando-se em conta o aspecto sensorial, e o aproveitamento da castanha-do-brasil, matéria-prima nacional pouco aproveitada industrialmente no mercado interno.

Esses novos produtos que lembram pouco o sabor original da soja apresentam baixo custo e alta qualidade protéica e energética (CABRAL; FERNANDES, 1980; BEHRENS; SILVA, 2004). O EHS também é uma alternativa às pessoas que tem intolerância à lactose e aos que procuram uma alimentação vegetariana (ROSENTHAL et al., 2002). O consumo desses produtos tem aumentado nos últimos tempos apontando para uma mudança na atitude dos consumidores, também pelo fato de ter sido comprovado em recentes estudos seus benefícios para a saúde, como fonte preventiva das doenças crônico-degenerativas, através dos fitoquímicos, e sendo incluído na relação dos alimentos funcionais (PRUDÊNCIO et al., 2002).

## 2.5 IMPORTÂNCIA DE BEBIDAS EM PRODUTOS ALIMENTÍCIOS

Segundo IPARDES, (2011) o valor da transformação industrial do Paraná atingiu R\$ 52,5 bilhões em 2008. Na estrutura industrial do Estado o segmento de alimentos e bebidas contribui com 19,8% do valor da transformação da indústria estadual. No mercado nacional de bebidas, as não alcoólicas tiveram seu crescimento impulsionado principalmente pela mudança de atitude do consumidor, pois a demanda por produtos com ênfase em propriedades nutricionais e funcionais aumentou significativamente (SILVA et al., 2008) auxiliando a população a ingerir as recomendações diárias de micronutrientes (GONÇALVES et al., 2008).

No Brasil, alguns pesquisadores têm mostrado a possibilidade de desenvolver novos produtos alimentares à base de folhas da erva-mate. Formulações que apresentam características sensoriais diferenciadas em relação às bebidas tradicionais, que buscam a preservação dos compostos funcionais da

planta, têm alcançado boa aceitabilidade pelos consumidores, sendo um indicativo positivo para a inovação no setor ervateiro (BASTOS et al., 2007). O crescente número de patentes relacionados aos produtos da erva-mate demonstra o interesse na descoberta de propriedades biológicas dessa matéria-prima, assim como seus derivados (BASTOS et al., 2007; CENI, 2005).

## 2.6 ANÁLISE SENSORIAL

A análise sensorial é utilizada para evocar, medir, analisar e interpretar reações às características de alimentos e outros materiais da forma como são percebidas pelos sentidos da visão, olfato, gosto, tato e audição (MINIM, 2006).

É uma técnica de medição e análise tão importante quanto os métodos químicos, físicos e microbiológicos. Este tipo de análise tem como vantagem, que a pessoa responsável pela mensuração traz seus próprios instrumentos de análise, ou seja, seus cinco sentidos (ANZALDUA-MORALES, 1994). Com auxílio dos órgãos do sentido, pode-se determinar a aceitabilidade e qualidade dos alimentos. Seu uso estende-se desde as equipes sensoriais na indústria até a análise do efeito da embalagem no produto; além do monitoramento, melhoramento ou lançamento de novos produtos no mercado (FERREIRA et al, 2000).

A análise sensorial deve ser aplicada durante o desenvolvimento de um produto, pois se torna necessária a sua caracterização sensorial, verificar e adequar formulações bem como quantificar a aceitação do produto final pelo público alvo (MONTEIRO, 1984).

Dentre os diversos métodos, os testes de aceitação, teste discriminativo e análise descritiva são bastante importantes, pois acessam diretamente a opinião do consumidor ou potencial de um produto, sobre as características específicas ou idéias sobre o mesmo (DUTCOSKY, 2007). Segundo Stone e Sidel (1993), a análise de aceitação pode fornecer informações importantes sobre o quanto às pessoas gostam ou não de um determinado produto. Entre os métodos sensoriais existentes para medir a aceitação e a preferência por alimentos ou bebidas, a escala hedônica estruturada de nove pontos constitui o método mais aplicado pela confiabilidade dos resultados e pela sua simplicidade (STONE; SIDEL, 1985).

## 2.7 VIDA DE PRATELEIRA

A vida de prateleira é o período de tempo decorrido entre a produção e o consumo de um produto alimentício. Durante esse período o produto se caracteriza pelo nível satisfatório de qualidade (CABRAL; FERNANDES, 1980) que pode ser definido com auxílio da avaliação sensorial, associada à avaliação de sua segurança microbiológica e características químicas, físico-químicas e nutricionais (LABUZA; SCHMIDL, 1985).

Segundo Freitas et al, (2000), a complexidade dos alimentos dificulta a determinação precisa da vida de prateleira. É muito importante ter o máximo de informações sobre o alimento a conservar, aliado a um bom conhecimento do mecanismo ou da cinética das reações de deterioração possibilitando uma estimativa da sua vida-de-prateleira e o estabelecimento das condições de conservação mais adequadas aquele tipo particular de alimento.

Várias alterações podem ocorrer nos alimentos durante o processamento e a estocagem, o que pode desencadear uma série de reações que podem levar à sua degradação e consequente rejeição pelos consumidores (CABRAL; FERNANDES, 1980). Um dos parâmetros observados na vida de prateleira de bebidas a base de soja é o efeito do tratamento térmico sobre as propriedades reológicas das suas proteínas (MORIN et al. 2007). A estabilidade dos parâmetros de qualidade como pH, acidez e as propriedades bioativas em bebidas com extrato de soja durante o tempo de armazenamento também são importantes na determinação de um valor absoluto de vida de prateleira (PENÃ et al., 2010).

A vida de prateleira de um novo alimento é, portanto, um critério para a avaliação do seu tempo de estabilidade através da observação de alterações com base nos atributos sensoriais (cor, sabor, aroma e textura), físicos e químicos.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 MATERIAL

##### 3.1.1 Amostras

Foram utilizadas duas progênes de erva-mate (*Ilex paraguariensis*) de maior produtividade de massa foliar, provenientes de plantas expostas ao sol, em campos de produção experimental. As amostras foram definidas por estudos do programa de melhoramento genético conduzido pela Embrapa-Florestas em Colombo-PR, sob coordenadas geográficas de 25° 19' 16" de latitude Sul e 49° 09' 31" de longitude Oeste. As plantas foram definidas como A7, amostra de árvores plantadas com 12 anos de idade da localidade de Ponta Grossa/PR e F1, amostra de árvores nativas com idade de 80 anos com procedência de São Mateus do Sul/PR. Coletadas no mês de agosto de 2009, suas folhas sofreram secagem em forno de micro-ondas doméstico a 2.450 MHz, modelo PMW-101 (Philco) segundo metodologia de Hansel et al, (2008). Após trituração em moinho de bancada IKA, modelo A11 basic, as amostras foram acondicionadas em sacos de polipropileno e armazenadas em freezer até o momento das análises.

O extrato hidrossolúvel de soja (EHS) – Provesol FB com aproximadamente 12% de proteína, foi fornecido pela empresa Olvebra Industrial S.A. localizada no município de Eldorado do Sul, Rio Grande do Sul, Brasil (composição química no Anexo1).

##### 3.1.2. Reagentes

Para a realização das análises, foram usados os padrões de rotina (Ru), ácido cafeico (AC), ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA), cafeína, teobromina e teofilina, DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-picrilhidrazila), ABTS<sup>•+</sup> (2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina- 6-



ácido sulfônico)), Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico), adquiridos da Sigma Chemicals Co.<sup>®</sup> (St. Louis, EUA). O metanol grau cromatográfico, o ácido acético, acetona, álcool metílico, persulfato de potássio e o ácido sulfúrico de grau analítico, foram adquiridos da Merck (Darmstadt, Alemanha).

### 3.2 MÉTODOS

A Figura 8 apresenta um esquema simplificado das análises que foram realizadas nas diferentes fases da pesquisa para as matérias-primas, os extratos e as bebida elaboradas. As análises foram realizadas nos Laboratórios na Usina Piloto Bloco A e B da Universidade Federal do Paraná, Laboratório de Tecnologia, Laboratório de Química Analítica Aplicada e Laboratório de Análise Sensorial. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

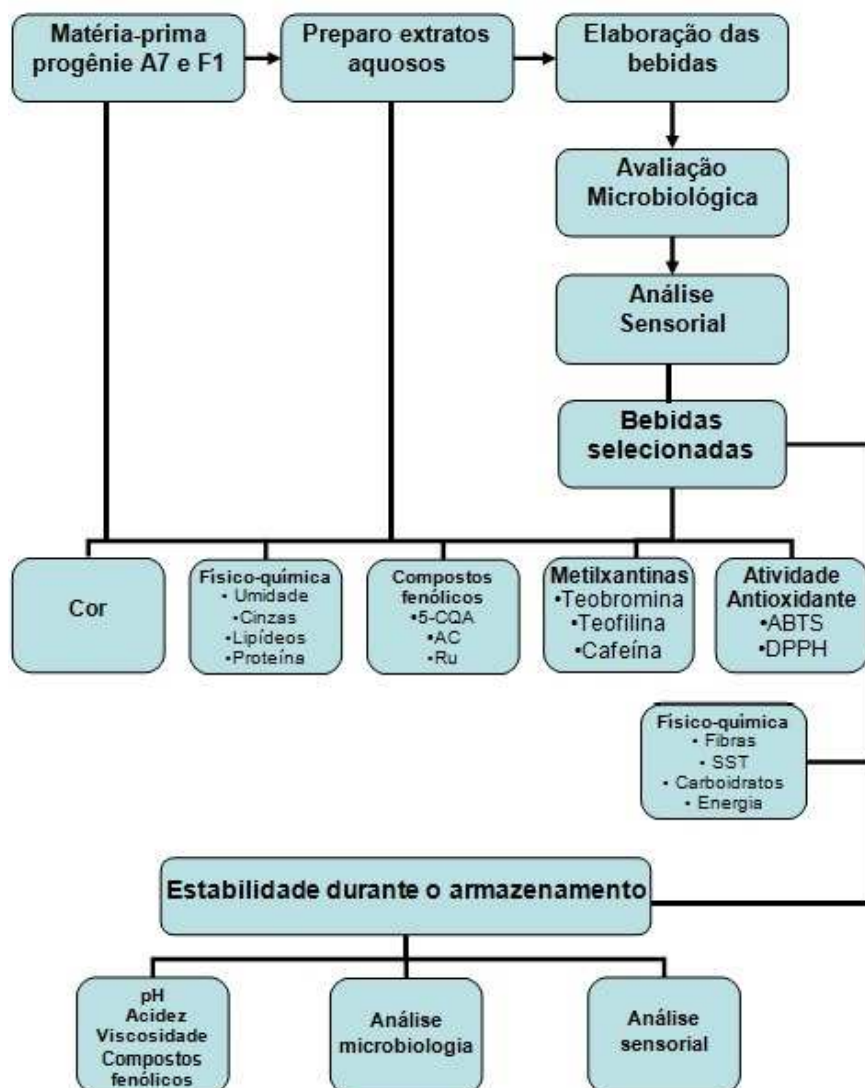


FIGURA 8 - DIAGRAMA DAS ANÁLISES QUE FORAM REALIZADAS NAS DIFERENTES FASES DA PESQUISA PARA AS DUAS PROGÊNIES DE ERVA-MATE, EXTRATOS AQUOSO E BEBIDAS OBTIDAS

### 3.2.1 Preparo dos extratos aquosos

Os extratos aquosos das duas progênie de erva-mate (Figura 9) foram obtidos com base nos procedimentos descritos por Burgardt (2000) adaptado, que consiste basicamente em uma proporção de erva-mate com uma parte em água mineral aquecida a temperatura de 85°C durante trinta minutos em banho-maria, sob agitação constante, filtrados e utilizados para elaboração das bebidas.



FIGURA 9 - EXTRATO AQUOSO A7 E F1  
FONTE: ACERVO DA AUTORA, 2010

### 3.2.2 Desenvolvimento das formulações das bebidas

Previamente foram testadas em bancada por análise sensorial restrita, misturas de extrato de erva-mate e EHS para elaboração de bebidas de sabor agradável à equipe da pesquisa, simulando a composição de bebidas a base de soja encontrada no mercado. Com base nessa prévia foram elaboradas seis formulações de bebida por progênie, onde as variáveis independentes foram estudadas em três níveis para os extratos aquosos obtidos conforme Burgardt (2000) adaptado e dois níveis para EHS, num experimento em bloco casualizado, conforme a tabela abaixo.

TABELA 2 - CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS UTILIZADAS NA FORMULAÇÃO DAS BEBIDAS

BEBIDAS	EXTRATO AQUOSO (%)	EHS (%)
A7a	X	Y
A7b	2X	Y
A7c	3X	Y
A7d	X	1,33Y
A7e	2X	1,33Y
A7f	3X	1,33Y
F1a	X	Y
F1b	2X	Y
F1c	3X	Y
F1d	X	1,33Y
F1e	2X	1,33Y
F1f	3X	1,33Y

As bebidas foram preparadas conforme a formulação de propriedade do trabalho de pesquisa do convênio Embrapa/UFPR.

Em todas as formulações foram adicionados sacarose, acidulantes, conservantes, com base nos limites estabelecidos pela legislação (ANVISA, 1999), goma gelana HS-B e água mineral.

Na sequência, foram homogeneizadas e pasteurizadas em banho-maria a 80°C por vinte minutos, sendo então acondicionadas em garrafas esterilizadas de vidro de 300 mL, fechadas com tampas metálicas rosqueáveis e mantidas sob refrigeração até o momento das análises.

O tempo de pasteurização de vinte minutos foi previamente estabelecido pela análise do comportamento microbiológico de duas amostras de bebida selecionadas que foram submetidas à zero, quinze, vinte e trinta minutos de aquecimento em banho-maria a 80°C, com base em Faccin et al. (2009).

As seis formulações de bebida de cada progênie foram submetidas à análise microbiológica e análise sensorial conforme descrito a seguir para selecionar as duas melhores formulações.

### 3.3 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS BEBIDAS

As análises microbiológicas das bebidas foram realizadas no Laboratório de Microbiologia do Centro de Pesquisa e Processamento de Alimentos (CEPPA) da Universidade Federal do Paraná, segundo metodologia oficial do American Public Health Association (APHA, 2001).

- Contagem de Coliformes a 45°C (*Escherichia coli*);
- Contagem de *Bacillus cereus*;
- Pesquisa de *Salmonella* sp.

### 3.4 AVALIAÇÃO SENSORIAL DAS BEBIDAS

A execução da avaliação sensorial do projeto de pesquisa foi previamente aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciência da Saúde da Universidade Federal do Paraná (Registro CEP/SD: 915.040.10.04, CAAE: 0024.0.091.000-10 - Anexo 2). Cada provador assinou o termo de consentimento livre e esclarecido para participar da pesquisa, o qual se encontra no Apêndice 1.

As seis formulações de bebidas de cada progênie foram submetidas à avaliação sensorial para seleção de duas bebidas de melhor aceitação.

As duas bebidas selecionadas foram submetidas à análise sensorial para verificar sua estabilidade durante o estudo da vida-de-prateleira.

A avaliação sensorial foi realizada no Laboratório de Análise Sensorial, Usina Piloto Bloco B, do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da UFPR, contando com a participação de 70 provadores não-treinados, sendo estes alunos de graduação, pós-graduação, funcionários e docentes da UFPR com idade entre 18 e 65. A metodologia utilizada baseou-se na norma da ABNT (1993), que estabelece os métodos de análise sensorial dos alimentos e bebidas.

Para o teste de aceitação, foi utilizada a escala hedônica estruturada de nove (9) pontos, em que as avaliações variam de gostei muitíssimo (valor 9) e desgostei muitíssimo (valor 1).

O teste de intenção de compra do produto foi realizado juntamente com o teste de aceitação (Apêndice 2) e incluiu cinco opções de compra, na qual as avaliações variaram de “certamente eu compraria” a “certamente eu não compraria” correspondendo ao maior e menor escore “1” e “5”, respectivamente (MEILGAARD et al., 2007).

### 3.5 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA ERVA-MATE, EXTRATOS AQUOSOS E DAS BEBIDAS SELECIONADAS

#### 3.5.1 Determinação da composição centesimal

Nas amostras de erva-mate (matéria-prima), nos extratos aquosos e nas bebidas preparadas foram analisadas a umidade, cinzas, lipídeos e proteína de acordo com os métodos da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2002). Apenas nas bebidas foi determinada a quantidade de fibras alimentares pelo método 985.29 (AOAC, 2005). Carboidrato total foi calculado por diferença (% umidade + % cinzas + % lipídeos + % proteínas + % fibras). O teor de sólidos solúveis totais (SST) foi determinado utilizando-se um refratômetro de bancada (RL3 – Polskie Zakłady Optyczne S.A.), com escala de 0 a 90°Brix, sendo os resultados expressos em °Brix (AOAC, 2000). O valor energético (Kcal) foi estimado conforme os valores de conversão de 4 Kcal/g para proteína e carboidratos totais e 9 Kcal/g para lipídios, segundo Watt e Merrill (1999).

#### 3.5.2 Análise da cor

A cor foi determinada usando um colorímetro digital HunterLab MiniScan XE Plus (Hunter Associates Laboratory Inc., Reston, VA, EUA), o instrumento equipado com iluminante D65/10° calibrado é organizado em coordenadas cartesianas, conforme a Figura 10. O eixo L\* vai do topo à base, sendo que o valor

máximo de  $L^*$  é 100 (branco) e o mínimo é zero, o qual representa o preto. Os eixos  $a^*$  e  $b^*$  não tem limites numéricos específicos, de forma que o vermelho é representado por  $(+a)$  e o verde representado por  $(-a)$ ; o amarelo como  $(+b)$  e o azul  $(-b)$  (HUNTERLAB, 2008). As medidas foram tomadas de forma direta e a média das três determinações considerada como resposta para o parâmetro cor.

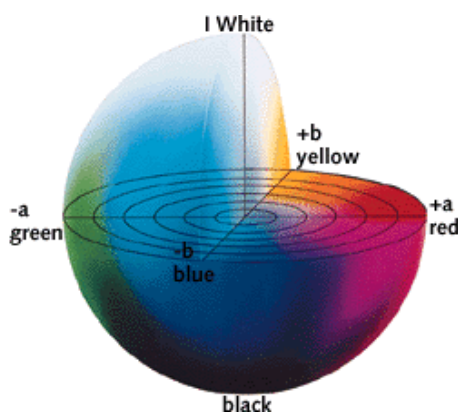


FIGURA 10 - DIAGRAMA REPRESENTANDO O ESPAÇO DE CORES CIELAB  
FONTE: HUNTERLAB, (2008) ADAPTADO

### 3.5.3 Compostos bioativos

#### 3.5.3.1 Quantificação dos compostos fenólicos

A extração e determinação dos compostos fenólicos da erva-mate foi realizada de acordo com Dutra et al. (2010) e Hoffmann-Ribani (2006). Consistiu em adicionar 100 mL de solução água:etanol 1:1 (v/v) em 2 g de erva-mate mantida por 12 horas, a temperatura ambiente. Seguiram-se três extrações com 25 mL da solução hidro-etanólica a 50% sob refluxo por 30 min cada. Estes foram filtrados em membrana filtrante (PTFE) com poros de 0,45  $\mu\text{m}$  da Millipore. Os extratos aquosos e as bebidas preparadas foram diretamente analisados após filtração em filtros (PTFE) com poros de 0,45  $\mu\text{m}$  da Millipore.

A determinação dos ácidos fenólicos, ácido 5-cafeoilquinico (5-CQA) e ácido cafeico (AC) e do flavonol rutina (Ru) foi realizada por CLAE, conduzida em um cromatógrafo a líquido da marca Agilent, modelo 1200 séries, controlado pelo

Software EZ Chrom Elite, com sistema automático de injeção (ALS), detector de arranjo diodos (DAD). A coluna em uso foi a Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 150 mm, 5 µm). A eluição em gradiente teve como fase móvel solvente A, água/ácido fórmico (99,55:0,45 v/v) e solvente B, metanol/ácido fórmico (99,55:0,45 v/v). A programação do gradiente foi a seguinte: iniciou-se com 80%A:20%B mantido até 5 min passando para 58%A:42%B em 7 min retornando a 80%A:20%B em 16 min mantida até o final de 20 min de corrida cromatográfica. A detecção foi monitorada em 325 nm para o ácido cafeico e 5-CQA e 370 nm para rutina.

### 3.5.3.2 Quantificação de metilxantinas

As metilxantinas, cafeína, teofilina e teobromina foram extraídas de 2 g de amostras da matéria-prima com ácido sulfúrico em banho-maria, seguido por neutralização com hidróxido de sódio a 40%, conforme metodologia descrita por Dutra et al. (2010). Estes foram filtrados em membrana filtrante politetrafluoroetileno (PTFE) de 0,45 µm da Millipore. Os extratos aquosos e as bebidas preparadas foram diretamente analisados após filtração em filtros (PTFE) com poros de 0,45 µm da Millipore.

Alíquotas de 5 µL da amostra foram injetadas em um cromatógrafo a líquido da marca Agilent, com sistema automático de injeção (ALS), detector de arranjo diodos (DAD), modelo 1200 séries controlado pelo Software EZ Chrom Elite. Foi utilizado uma coluna Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6 x 150 mm, 5 µm). A fase móvel utilizada foi solvente água/metanol (80:20 vv), com fluxo de 1 mL/min, isocrático. A detecção foi fixada em 272 nm para cafeína, teobromina e teofilina.

### 3.5.4 Determinação da atividade antioxidante

A capacidade de sequestro de radicais livres das amostras foi analisada pelos métodos: DPPH<sup>•</sup> (2,2-difenil-1-picrilhidrazila) e ABTS<sup>•+</sup> (2,2-azino-bis-(3-etilbenzotiazolina- 6-ácido sulfônico)).



#### 3.5.4.1 Método do radical ABTS<sup>•+</sup>

Para a determinação da atividade antioxidante pelo método do radical ABTS<sup>•+</sup>, usou-se a metodologia descrita por Re et al. (1999) adaptado segundo descrito pela Embrapa (RUFINO et al., 2007). Inicialmente foi formado o radical ABTS<sup>•+</sup>, a partir da reação de 7 mM de ABTS com 2,45 mM de persulfato de potássio, os quais foram mantidos à temperatura ambiente e na ausência de luz, por 16 horas. Transcorrido esse tempo, a solução foi diluída em etanol até a obtenção de uma solução com absorbância de 0,70 ( $\pm 0,05$ ). Para realizar as análises, foram adicionados 30  $\mu$ L da amostra diluída a 3,0 mL do radical ABTS<sup>•+</sup>, determinou-se a absorbância em espectrofotômetro UV-1600 a 734 nm, após 6 minutos de reação. Como solução padrão, usou-se o antioxidante sintético Trolox (6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico). Todas as leituras foram realizadas em triplicata, e os resultados foram expressos em equivalente de  $\mu$ M Trolox de atividade antioxidante/g da amostra.

#### 3.5.4.2 Método do radical DPPH<sup>•</sup>

O ensaio de captura de radicais DPPH<sup>•</sup>, desenvolvido por Brand-Williams et al. (1995) modificado por Sánchez-Moreno et al. (1998) conforme apresentado por Rufino et al. (2007), tem por base a redução do radical DPPH<sup>•</sup>, que ao fixar um H<sup>•</sup> (removido do antioxidante em estudo), leva a uma diminuição da absorbância. Para a análise das amostras, adicionaram-se a 3,9 mL do radical DPPH<sup>•</sup> (0,06 mM) uma alíquota de 0,1 mL da amostra. As leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-1600 a 515 nm, após 30 minutos de reação. Todas as determinações foram realizadas em triplicata e acompanhadas de um controle. A queda na leitura da absorbância das amostras foi correlacionada com o controle, estabelecendo-se a porcentagem de descoloração do radical DPPH<sup>•</sup>. Permitindo calcular, após o estabelecimento do equilíbrio da reação, a quantidade de antioxidante gasta para reduzir 50% do radical DPPH<sup>•</sup>. A atividade antioxidante das amostras foi expressa em IC<sub>50</sub>, erva-mate em g/g DPPH e para extrato e bebida em mL/g DPPH.

### 3.5.5 ESTABILIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO DAS BEBIDAS SELECIONADAS

#### 3.5.5.1 pH, acidez e viscosidade das bebidas durante a estocagem de 120 dias

Durante o período de armazenamento, desde o tempo zero, foram analisados semanalmente os seguintes parâmetros: pH por leitura direta em potenciômetro digital marca Hanna Instruments (BRASIL, 2005), a acidez total por titulação volumétrica com solução de NaOH 0,1 M (BRASIL, 2005) e a viscosidade determinada em um viscosímetro capilar da marca SCHOTT, modelo AVS 350 e banho termostático modelo CT 52. O método para determinação da viscosidade consistiu no equipamento segundo descrito no manual do mesmo, na medida do tempo requerido para que certa quantidade de amostra líquida escoe através de um tubo capilar com comprimento e espessura definidos.

#### 3.5.5.2 Análise da estabilidade dos compostos fenólicos durante o armazenamento

Seguindo o descrito em 3.5.3.1 foram quantificados mensalmente os compostos fenólicos por CLAE nas bebidas durante o armazenamento, estas injetadas diretamente após serem filtradas em filtros (PTFE) de 0,45 µm da Millipore.

#### 3.5.6 Avaliação microbiológica e análise sensorial das bebidas durante a estocagem

As duas bebidas selecionadas foram avaliadas microbiologicamente (item 3.3) a cada 30 dias durante o armazenamento, paralelamente à avaliação sensorial (teste de aceitação e intenção de compra, item 3.4) em amostras coletadas ao acaso.

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Todas as determinações foram realizadas em triplicata. A análise estatística dos resultados foi conduzida utilizando análise de variância (ANOVA) e o teste de Tukey com um nível de confiança de 95%. Foram estatisticamente avaliadas pelo programa Statistica para Windows, versão 7.0, Statsoft.

## 4. RESULTADO E DISCUSSÃO

### 4.1 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E SENSORIAL DAS SEIS BEBIDAS DE CADA PROGÊNIE DE ERVA-MATE

De acordo com os resultados obtidos na avaliação microbiológica das bebidas, todas corresponderam ao padrão de qualidade. Ou seja, os teores de *Bacillus cereus* foram menores que 10 UFC/mL, foi constatado ausência da *Salmonella* spp em 25 mL de amostra. Para coliformes fecais a 45°C o valor se manteve menor que 3NMP/mL (Apêndice 3), obedecendo o estabelecido pela legislação vigente (BRASIL, 2001).

A avaliação sensorial de todas as bebidas elaboradas com diferentes proporções do extrato de erva-mate e EHS obtiveram aceitação que variou de 5,0 a 6,8 conforme apresentado na Figura 11. Dentre as formulações as duas progênies estudadas de melhor aceitação foram à bebida A7b, que se destacou por apresentar maior preferência, com média de 6,8 seguida da bebida F1c com escore de 6,3 que correspondem a “gostei moderadamente” e “gostei ligeiramente”. Comportamento semelhante ao do presente estudo foi evidenciado por Jaekel et al, (2010), que alcançaram médias entre 5,9 e 6,8, correspondentes a “gostei ligeiramente” e “gostei regularmente” respectivamente, em estudo com bebidas de soja e de arroz.

Com relação à intenção de compra, os provadores tiveram atitude de compra entre 2 de “Provavelmente compraria” e 3 “Tenho dúvidas se compraria”, de acordo com a escala de intenção de compra utilizada neste trabalho, variando de 1(certamente compraria) a 5 (certamente não compraria). Por ser um novo produto, com sabor e características desconhecidas, o nível de atitude de compra pelos provadores foi considerado aceitável.

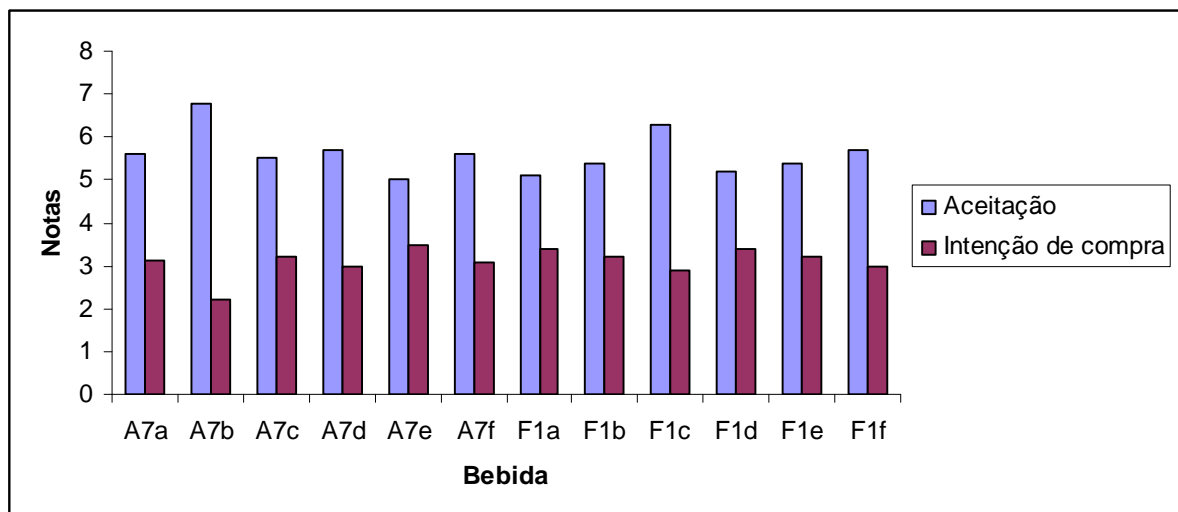


FIGURA 11 - ÍNDICE DE ACEITABILIDADE EM RELAÇÃO À FREQUENCIA DOS VALORES HEDÔNICOS ATRIBUÍDOS AS SEIS BEBIDAS ELABORADAS PARA CADA PROGÊNIE DE ERVA-MATE 9 (GOSTEI MUITÍSSIMO) E 1 (DESGOSTEI MUITÍSSIMO) E O TESTE DE INTENÇÃO DE COMPRA COM AVALIAÇÃO VARIANDO DE 1 (CERTAMENTE COMPRARIA) A 5 (CERTAMENTE NÃO COMPRARIA)

Foram selecionadas para o estudo as bebidas A7b com menor concentração de extrato de erva-mate em relação à bebida F1c (Figura 12), mas ambas com a menor concentração de EHS, conforme formulação descrita na Tabela 1. Os polifenóis presentes em grande quantidade nos extratos de erva-mate podem ter ação sobre as proteínas do EHS precipitando-as, levando a produção de partículas que passam a ser um problema quando percebidas a nível sensorial (LESSCHAEVE; NOBLE, 2005).



FIGURA 12 - BEBIDAS DE MAIOR ACEITAÇÃO SENSORIAL, A7b E F1c  
FONTE: ACERVO DA AUTORA, 2010

## 4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA ERVA-MATE, EXTRATOS AQUOSOS E DAS BEBIDAS SELECIONADAS

### 4.2.1 Determinação da composição centesimal

A composição das duas progênies de erva-mate A7 e F1, usadas como matéria-prima para elaboração das bebidas apresentou variação normal frente aos dados de outros trabalhos (PAGLIOSA et al., 2010; EFING et al., 2009) conforme Tabela 3, uma vez que a composição química da erva-mate pode variar quanto à espécie, idade, estação, clima e condições de cultivo (LIN et al., 1998).

TABELA 3 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DA ERVA-MATE A7 E F1 E DADOS DE OUTROS TRABALHOS

Parâmetros	Erva-mate A7	Erva-mate F1	Pagliosa et al. <sup>1</sup> (2010)	Enfing et al. <sup>2</sup> (2009)
Proteína (g/100g)	9,52±0,41 <sup>b</sup>	10,05±0,11 <sup>a</sup>	13,23	2,08
Lipídios (g/100g)	6,30±0,05 <sup>b</sup>	8,13±0,10 <sup>a</sup>	7,12	10,91
Cinzas (g/100g)	5,77±0,06 <sup>a</sup>	5,70±0,09 <sup>a</sup>	6,22	5,51
Umidade (g/100g)	7,04±0,31 <sup>a</sup>	7,01±0,09 <sup>a</sup>	5,82	11,23

Valores médios na mesma linha seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey no nível de 5% de probabilidade

<sup>1</sup> Segundo metodologias descritas pela *Association of Official Analytical Chemists*, métodos (AOAC, 2005)

<sup>2</sup> Segundo metodologias do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2005)

As progênies estudadas não diferiram estatisticamente em relação ao teor de cinzas e umidade, porém a progênie F1 apresentou teor de proteína e lipídios superior ao da progênie A7 (Tabela 3).

A composição centesimal dos extratos aquosos apresentada na Tabela 3 não diferiu para o teor de proteína, lipídios, cinzas e umidade. O teor de proteínas calculado em base seca para os extratos A7 e F1 respectivamente 3,85 g/100g e 5,37 g/100g após o processo de extração resultaram em valor inferior ao teor da matéria-prima (Tabela 4).

Por não existir no mercado bebida a base de erva-mate e soja, as informações nutricionais declaradas nos rótulos de bebidas comerciais com a base principal em soja foram pesquisadas em supermercados (Tabela 4). Estas bebidas comerciais apresentam valores superiores aos teores de proteínas e lipídeos e inferiores aos de fibras alimentares e carboidratos frente aos obtidos para as bebidas neste trabalho, uma vez que neste, a base das bebidas é o extrato de erva-mate.

TABELA 4 - COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DOS EXTRATOS AQUOSOS DE ERVA-MATE, DAS BEBIDAS ELABORADAS E BEBIDAS COMERCIAIS COM SOJA

Parâmetros	Amostras				
	Extrato A7	Extrato F1	Bebida A7b	Bebida F1c	Bebidas comerciais à base de soja
Proteína (g/100mL)	0,05 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,05 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,33 ± 0,30 <sup>a</sup>	0,52 ± 0,38 <sup>a</sup>	2,50 – 2,60
Lípídeos (g/100mL)	0,33 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,38 ± 0,13 <sup>c</sup>	0,95 ± 0,19 <sup>b</sup>	1,33 ± 0,02 <sup>a</sup>	1,35 – 1,50
Umidade (g/100mL)	98,70 ± 0,01 <sup>a</sup>	99,07 ± 0,01 <sup>a</sup>	90,60 ± 0,21 <sup>b</sup>	88,19 ± 0,10 <sup>c</sup>	--
Cinzas (g/100mL)	0,14 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,11 ± 0,01 <sup>b</sup>	0,21 ± 0,01 <sup>a</sup>	0,22 ± 0,01 <sup>a</sup>	--
pH	6,41 ± 0,04 <sup>a</sup>	6,31 ± 0,02 <sup>b</sup>	4,30 ± 0,01 <sup>d</sup>	4,46 ± 0,01 <sup>c</sup>	--
Fibras alimentares (g/100mL)	--	--	0,41	0,54	0 (zero)
Sólidos solúveis totais (°Brix)	--	--	8,10 ± 0,02 <sup>b</sup>	10,10 ± 0,10 <sup>a</sup>	--
Carboidratos (g/100mL)	--	--	7,50	9,20	3,70 – 5,50
Energia (Kcal/100 mL)	--	--	36,20	48,42	38,50 -44,50

Valores médios na mesma linha seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey no nível de 5% de probabilidade

Os sólidos solúveis totais (SST) para bebidas formuladas apenas com erva-mate, segundo o trabalho de Mello et al. (2009) foram definidos em 12°Brix para um pH de 3,4, porém Contreras (2007) obteve maior aceitação na bebida a base de erva-mate elaborada com 9°Brix, valor inferior aos refrigerantes (11°Brix) e sucos (12°Brix) encontrados no mercado. Bebidas a base de soja foram elaboradas variando de 15 a 20°Brix e pH 3,64 a 3,97 (POTTER et al., 2007), assim as bebidas de erva-mate com soja em estudo, apresentam SST baixos para um pH maior quando comparados a outros trabalhos. Cavalcanti et al. (2006), concluíram que elevada concentração SST verificadas nas bebidas, associada a um baixo pH podem contribuir para o desenvolvimento de lesões de cárie caso sejam consumidos em excesso.



#### 4.2.2 Análise da cor

Na Tabela 5 são apresentados os resultados obtidos para a análise de cor das amostras de erva-mate para os extratos aquosos e as bebidas.

TABELA 5 - VALORES MÉDIOS DAS MEDIDAS DE COR L\*, a\* E b\* PELO SISTEMA CIELAB

Amostras	L*	a*	b*
Erva-mate A7	36,94 ± 0,58 <sup>d</sup>	-7,78 ± 0,02 <sup>f</sup>	20,63 ± 0,47 <sup>cd</sup>
Erva-mate F1	42,14 ± 0,72 <sup>c</sup>	-6,32 ± 0,38 <sup>e</sup>	21,87 ± 0,95 <sup>c</sup>
Extrato Aquoso A7	18,36 ± 0,51 <sup>e</sup>	-2,37 ± 0,83 <sup>d</sup>	28,17 ± 0,42 <sup>b</sup>
Extrato Aquoso F1	34,38 ± 0,96 <sup>d</sup>	-0,47 ± 0,20 <sup>c</sup>	45,14 ± 0,24 <sup>a</sup>
Bebida A7b	60,18 ± 0,22 <sup>a</sup>	2,21 ± 0,50 <sup>b</sup>	16,32 ± 0,96 <sup>d</sup>
Bebida F1c	57,09 ± 0,32 <sup>b</sup>	8,01 ± 0,58 <sup>a</sup>	19,87 ± 0,73 <sup>cd</sup>

Valores médios na mesma linha seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey no nível de 5% de probabilidade

As amostras de erva-mate apresentaram valores de L\* com luminosidade para branco predominante para F1 que diferiu estatisticamente da A7. Em relação aos extratos aquosos (Figura 9), o extrato A7 apresentou o menor valor de L\* indicando luminosidade de menor intensidade que o extrato F1 segundo análise estatística.

As bebidas apresentaram maior luminosidade em relação aos extratos aquosos utilizados para a elaboração das bebidas, o que demonstra que o processo acarreta em alterações da cor. Para L\* foi observada diferença estatística entre as bebidas

Quanto aos valores do parâmetro a\* (verde (-) e vermelho (+)) notou-se que estes apresentaram valores negativos tanto para as amostras de erva-mate quanto para os seus extratos, o que indica que estas amostras tenderam a cor verde. O mesmo não foi observado para as bebidas, estas apresentaram uma leve tendência ao vermelho, que diferiram estatisticamente entre si.

Os valores para o parâmetro b\* (azul (-) e amarelo (+)) indicaram que as amostras em geral tenderam a uma cor amarelada, já que os valores de b\* foram

positivos e mais intensos para extrato F1, conforme Figura 12. As amostras de erva-mate e bebidas não diferiram estatisticamente entre si para o parâmetro  $b^*$ .

#### 4.2.3 Compostos bioativos nas matérias-primas, extratos aquosos e nas bebidas selecionadas

Os compostos fenólicos e metilxantinas quantificados nas duas progênes de erva-mate (matéria-prima), nos extratos e nas duas bebidas de maior aceitação estão apresentados na Tabela 6. Quanto aos teores de ácidos fenólicos e flavonol a progênie A7 e seu extrato revelaram maior quantidade de 5-CQA, ácido cafeico e rutina que a progênie F1 e seu extrato, ambos não apresentando ácido cafeico. Resultado contrário foi observado para as metilxantinas que para progênie F1 e seu extrato apresentaram maior teor de teobromina e cafeína. Teofilina não foi detecta nas amostras.

Os resultados obtidos para matéria-prima de erva-mate foram coerentes com outros trabalhos encontrados na literatura, analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) na erva-mate, que variaram de 5,70 a 28,00  $\text{mg g}^{-1}$  para o ácido 5-cafeoilquínico, 0,14 a 0,55  $\text{mg g}^{-1}$  para ácido caféico e 0,60 a 13,00  $\text{mg g}^{-1}$  para rutina (CLIFFORD, 1990; FILIP et al., 2001; BORTOLUZZI et al., 2006; LÓPEZ et al., 2006; CARDOSO JÚNIOR et al., 2007). Os compostos fenólicos como os ácidos cafeico e clorogênico são conhecidos quanto a sua capacidade antioxidante no organismo humano, estando relacionados à proteção contra processos oxidativos que ocorrem naturalmente nos organismos e prevenção de patologias (SIMÕES et al., 2004; NACZK; SHAHIDI, 2006).

Assim como no presente estudo, os teores de cafeína e teobromina obtidos nas amostras de erva-mate estão dentro da faixa encontrada na literatura, variando de 0,20 a 21,46  $\text{mg g}^{-1}$  e de 0,05 a 0,21  $\text{mg g}^{-1}$ , respectivamente (CLIFFORD, 1990; MAZZAFERA, 1994; COELHO et al., 2007). A metilxantina, cafeína se destaca por sua ação estimulante sobre o sistema nervoso central, reduzindo a fadiga e o sono, estimula o centro respiratório; a teobromina apresenta efeito sobre a musculatura lisa, sendo utilizadas na prevenção e alívio sintomático da asma brônquica e no

tratamento de broncoespasmos e efeito sobre o aumento da diurese (ROBBERS; SPEEDIE; TYLES, 1997; RATES, 2000).

TABELA 6 - TEORES DE COMPOSTOS FENÓLICOS E METILXANTINAS NA ERVA-MATE E DERIVADOS

Parâmetro	Amostras					
	Erva-mate A7 (mg/g)	Erva-mate F1 (mg/g)	Extrato A7 (mg/mL)	Extrato F1 (mg/mL)	Bebida A7b (mg/mL)	Bebida F1c (mg/mL)
5-CQA	19,32 ± 0,24 <sup>a</sup>	17,93 ± 0,48 <sup>b</sup>	0,50 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,43 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,18 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,25 ± 0,01 <sup>c</sup>
ÁC	0,09 ± 0,07 <sup>a</sup>	nd	0,02 ± 0,01 <sup>b</sup>	<LQ	<LQ	<LQ
Ru	8,61 ± 0,19 <sup>a</sup>	6,08 ± 0,14 <sup>b</sup>	0,19 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,10 ± 0,04 <sup>c</sup>	0,05 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,05 ± 0,01 <sup>c</sup>
Teobromina	0,04 ± 0,07 <sup>b</sup>	0,48 ± 0,03 <sup>a</sup>	<LQ	0,02 ± 0,01 <sup>c</sup>	<LQ	<LQ
Teofilina	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Cafeína	1,64 ± 0,18 <sup>b</sup>	5,04 ± 0,22 <sup>a</sup>	0,07 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,25 ± 0,02 <sup>c</sup>	0,04 ± 0,01 <sup>c</sup>	0,18 ± 0,01 <sup>c</sup>

Valores médios na mesma linha seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey no nível de 5% de probabilidade

nd= Não detectado

<LQ = Limite de Quantificação ac. cafeico (0,80 µg/mL), teobromina (0,69 µg/mL)

A bebida F1c formulada com maior teor de extrato resultou em valor superior de 5-CQA (0,25 mg/mL) e cafeína (0,18 mg/mL) em relação a bebida A7b, porém sem diferença estatística entre elas e semelhante aos valores da faixa apresentada em amostras de chimarrão para 5-CQA (0,25 a 0,49 mg/mL) relatados por Hoffmann-Ribani e Rodriguez-Amaya (2006). Frente a amostras de chá mate os conteúdos neste estudo foram superiores ao relatado por Bastos et al. (2006) de 0,008 mg/mL tanto para 5-CQA quanto para cafeína. A bebida também apresenta maiores teores de cafeína quando comparada aos chás verde, branco e preto, 0,13 mg/mL, 0,14 mg/mL, 0,089 mg/mL, respectivamente e café instantâneo (0,07 mg/mL) (ROSTAGNO et al., 2011). Confirmando assim, que a bebida apresentou componentes funcionais como 5-CQA equivalente ou superior às bebidas encontradas no mercado.

#### 4.2.4 Determinação da atividade antioxidante

Na Tabela 7 estão representados os resultados da capacidade antioxidante determinada pelos métodos dos radicais ABTS e DPPH, para as duas progênes de erva-mate (matéria-prima), para os extratos aquosos e as bebidas elaboradas.

TABELA 7 - TEORES DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE (ABTS E DPPH) NA ERVA-MATE, EXTRATOS E BEBIDAS A BASE DE ERVA-MATE E SOJA

Amostras	Métodos		
	ABTS ( $\mu\text{M}$ Trolox/g amostra)	DPPH	
		(IC <sub>50</sub> )*	( $\mu\text{g/mL}$ )
Erva-mate A7	485,47 $\pm$ 0.03 <sup>a</sup>	38,64 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	0,74 $\mu\text{g/mL}$
Erva-mate F1	424,66 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>	39,72 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	0,76 $\mu\text{g/mL}$
Extrato A7	14,15 $\pm$ 0.01 <sup>c</sup>	37,03 $\pm$ 0.01 <sup>f</sup>	31,46 $\mu\text{L/mL}$
Extrato F1	9,41 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	42,42 $\pm$ 0.01 <sup>e</sup>	36,03 $\mu\text{L/mL}$
Bebida A7b	5,63 $\pm$ 0.02 <sup>f</sup>	147,06 $\pm$ 0.02 <sup>c</sup>	124,92 $\mu\text{L/mL}$
Bebida F1c	8,18 $\pm$ 0.02 <sup>e</sup>	92,83 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	78,85 $\mu\text{L/mL}$

Valores médios na mesma coluna seguidos pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey no nível de 5% de probabilidade.

\*IC<sub>50</sub> expresso para erva-mate em g / g DPPH e para extrato e bebida em mL/g DPPH

Os resultados deste trabalho indicam que a matéria-prima e o extrato da progênie A7, apresentam maior valor na captação do ABTS (485,47  $\mu\text{M}$  Trolox/g amostra e 14,15  $\mu\text{M}$  Trolox/g amostra) em relação à progênie F1, método que se aplica para medir a atividade antioxidante de compostos de natureza tanto lipofílica quanto hidrofílica (KUSKOSKI et al., 2005).

Peres (2007) determinou os principais compostos fenólicos em chimarrão por HPLC avaliando simultaneamente a contribuição individual da capacidade total antioxidante por reação em linha com ABTS em outro sistema HPLC acoplado, demonstrando que o 3-CQA, quercetina-3-O-ramnosylglucosideo (rutina), e quercetina-3-O-glucosideo foram os compostos que mais contribuíram para capacidade antioxidante e de forma menos intensa o 5-CQA.

Bravo et al. (2007) avaliaram a capacidade antioxidante pelo método ABTS em três marcas de erva-mate por infusões e extratos em base seca, obtendo em

média 1,64  $\mu\text{M}$  Trolox/g de infusão e 1,68  $\mu\text{M}$  Trolox/g no extrato, inferiores aos valores obtidos para as bebidas elaboradas nesse estudo onde se observou melhor atividade para bebida F1c com 8,18  $\mu\text{M}$  Trolox/ mL de bebida. Outra pesquisa realizada pelo método ABTS, por Gallice et al. (2011) determinou atividade antioxidante em vinho, o valor mínimo e máximo deste parâmetro corresponderam a 830  $\mu\text{M}$  Trolox/mL e 2790  $\mu\text{M}$  Trolox/mL respectivamente, enquanto que o valor médio foi de 2030  $\mu\text{M}$  Trolox/mL de vinho. Li et al., (2009) verificaram que os vinhos tintos têm maior capacidade antioxidante frente os níveis de vinhos brancos ou roses, pelo método ABTS.

Para a atividade antioxidante por DPPH, ensaio que permite conhecer a quantidade mínima da amostra capaz de reduzir em 50% o radical livre DPPH, as amostras da progênie A7 apresentaram maior capacidade de doar hidrogênio, necessitando de menores quantidades de matéria-prima frente a progênie F1, corroborando os dados por ABTS de melhor atividade antioxidante para progênie A7. Porém a bebida F1c resultou em produto de maior atividade antioxidante pelos métodos, DPPH ( $\text{IC}_{50}$  92,83) e ABTS (8,18  $\mu\text{M}$  Trolox/mL) uma vez que foi elaborada com maior quantidade de extrato de erva-mate. Unachukwu et al. (2010) estudando outros tipos de chás definiram valores médios para DPPH em  $\text{IC}_{50}$  de 36,07  $\mu\text{g/mL}$  para chá branco e para chás verdes  $\text{IC}_{50}$  de 23,26  $\mu\text{g/mL}$ .

Os resultados da atividade antioxidante nas bebidas pode ser relacionado com o teor dos compostos fenólicos, apresentados no item 4.2.3, que segundo estudo apresentado por Peres (2007) se correlacionam e são os responsáveis pela atividade antioxidante da erva-mate. Porém o ácido 3-CQA, de atividade mais intensa na erva-mate (Peres, 2007), não foi quantificado nas amostras do presente estudo.

#### 4.3 ESTABILIDADE DURANTE O ARMAZENAMENTO SOB REFRIGERAÇÃO DAS BEBIDAS SELECIONADAS

#### 4.3.1 pH, acidez e viscosidade das bebidas durante a estocagem

No desenvolvimento de novas bebidas um ponto chave é a sua estabilidade durante o armazenamento por alterações que podem sofrer pela ocorrência de uma série de transformações bioquímicas e microbiológicas. Essas alterações são identificadas pelas características dos ingredientes e observadas pela variação de pH e acidez das bebidas produzidas que foram acompanhadas semanalmente e estão representadas na Figura 13.

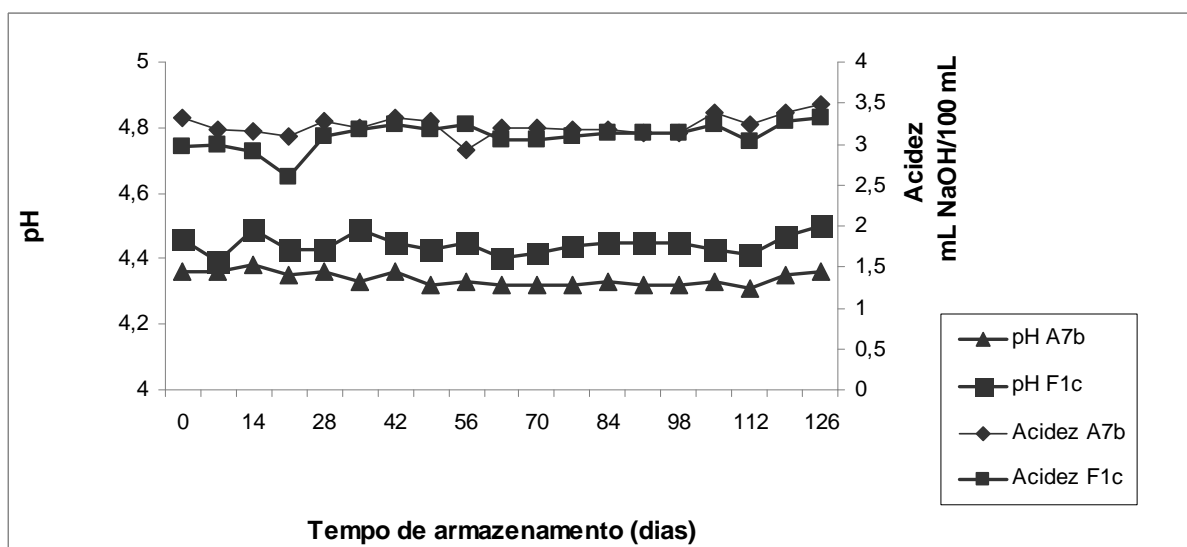


FIGURA 13 - VARIAÇÃO DO pH E ACIDEZ DURANTE A ESTOCAGEM DAS BEBIDAS SOB REFRIGERAÇÃO (4°C)

Os resultados da determinação de pH das duas bebidas durante o armazenamento a temperatura de 4°C manteve-se constante ao longo dos 126 dias, correspondendo a uma alta acidez, com valor médio de 3,2 mL NaOH/100 mL de bebida, favorecendo sua conservação. É importante ressaltar que esse pH (abaixo de 4,5) nas bebidas foi conseguido somente com a adição de acidulantes.

A viscosidade, parâmetro que influi na aceitabilidade pelo efeito sensorial nas bebidas, expressa em dados objetivos a resistência para certa força aplicada sobre um líquido, dependendo do teor de sólidos totais, composição de proteínas, lipídios e fibras deste (OGUNTUNDE; AKINTOYE, 1991), sendo de importância no controle de qualidade dos alimentos, variou de 1,93 a 2,04 cP para bebida A7b e

para a bebida F1c de 2,0 a 2,5 cP durante os 126 dias de estocagem (Figura 14). Valores entre 2,0 a 5,8 cP foram apresentados para bebidas comerciais a base de soja (OLIVEIRA et al., 2010) não havendo dados publicados sobre bebida a base de erva-mate ou erva-mate e soja para comparação.

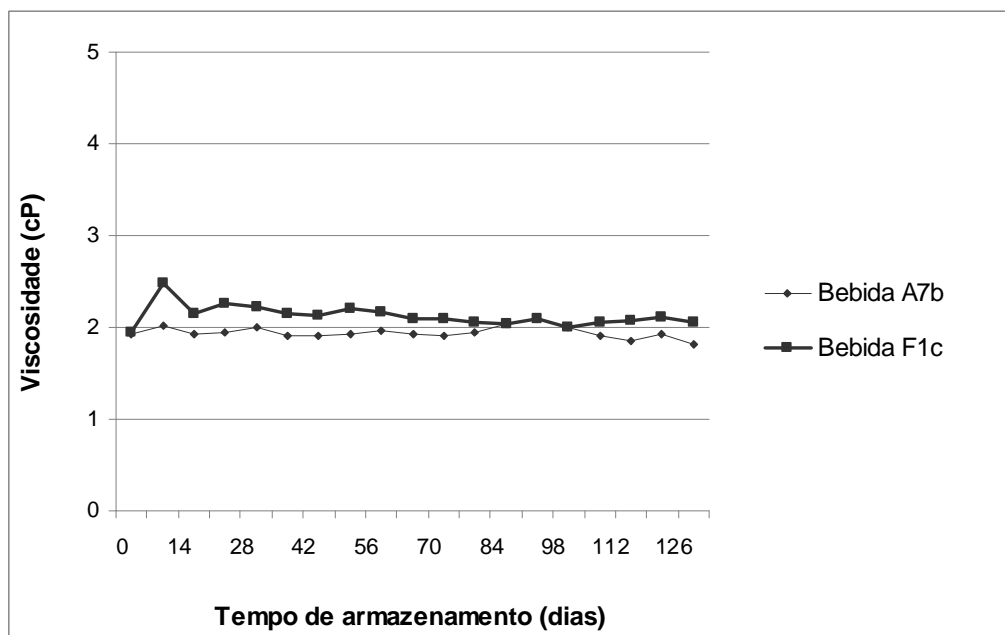


FIGURA 14 - VARIAÇÃO DA VISCOSIDADE DURANTE A ESTOCAGEM DAS BEBIDAS SOB REFRIGERAÇÃO (4°C)

Em bebidas a base de soja foi observado aumento da viscosidade durante armazenagem, fator que prejudica a aceitação destas. Segundo Peña et al. (2010) após o tratamento térmico a viscosidade em bebidas é modificada como resultado da mudança estrutural das proteínas da soja, como o desdobramento, agregação e suas interações com lipídios e outros componentes. No período estudado de armazenagem a viscosidade das bebidas de erva-mate e soja manteve-se estável devido ao adequado teor de proteína e/ou processamento utilizado que impediram as possíveis alterações nas proteínas das bebidas elaboradas.

#### 4.3.2 Compostos fenólicos durante o armazenamento

Conforme os resultados apresentados na Tabela 8 com relação aos compostos fenólicos 5-CQA e Ru observou-se que não houve variação significativa ( $p \leq 0,05$ ) durante o tempo de armazenamento de 120 dias, no teor destes nas bebidas A7b e F1c. O AC não foi detectado nas bebidas.

**TABELA 8 - TEOR DOS COMPOSTOS FENÓLICOS NAS BEBIDAS A7b E F1c DURANTE OS 120 DIAS DE ARMAZENAMENTO**

Parâmetros	Amostras							
	Bebida A7b (mg/mL)				Bebida F1c (mg/mL)			
	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias
5-CQA	0,18	0,18	0,17	0,17	0,24	0,25	0,24	0,24
ÁC	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd	nd
Ru	0,05	0,05	0,04	0,04	0,04	0,03	0,03	0,03

nd= Não detectado

Dutra et al., (2010) verificaram que os compostos fenólicos em amostras de matéria prima erva-mate não sofrem influência durante armazenamento natural de 180 dias. Labbé et al. (2008) estudando os compostos fenólicos em bebidas de chá verde durante o armazenamento de oito semanas observaram que nenhuma degradação significativa ocorreu no período. Potter et al. (2007) também não encontraram diferença no teor dos compostos fenólicos totais depois da pasteurização e após um mês de armazenamento em bebida de soja e suco concentrado.

#### 4.4 AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA E ANÁLISE SENSORIAL DAS BEBIDAS DURANTE A ESTOCAGEM



#### 4.4.1 Avaliação microbiológica

As características microbiológicas observadas a cada 30 dias para as bebidas durante os quatro meses de armazenamento em temperatura de refrigeração mantiveram os critérios exigidos pela legislação vigente (BRASIL, 2001) de *Bacillus cereus* menores que 10 UFC/mL, ausência da *Salmonella* spp em 25 mL de amostra e coliformes fecais a 45°C menor que 3NMP/mL (Tabela 9). Assim a pasteurização aliada à refrigeração foi eficiente para manter a qualidade microbiológica destas para o consumo no período do estudo.

TABELA 9 - AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS BEBIDAS A7b E F1c DURANTE O ARMAZENAMENTO DE 120 DIAS

Parâmetros	Amostras							
	Bebida A7b				Bebida F1c			
	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias	30 dias	60 dias	90 dias	120 dias
Coliformes 45°C UFC/g	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3	<0,3
Contagem de <i>Bacillus cereus</i> UFC/mL	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
<i>Salmonella</i> spp em 25g	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.	aus.

aus.= ausência

#### 4.4.2 Análise sensorial

A análise sensorial, ferramenta que auxilia no desenvolvimento de novos produtos, controle de qualidade, avaliação da estabilidade durante o armazenamento e a aceitação do consumidor, resultou em índices de aceitação para a bebida A7b que variaram de 6,4 a 7,0, durante o período de armazenagem, superiores aos da bebida F1c com escore de 6,1 a 6,4 elaborada com maior quantidade de extrato de erva-mate (Figura 15). Assim a bebida de maior aceitação A7b, apresentou a menor concentração de componentes químicos, como 5-CQA (0,18 mg/mL) e cafeína (0,04 mg/mL), que participam de processos bioquímicos

responsáveis pela adstringência, aroma e sabor das bebidas e formação de precipitados indesejáveis sensorialmente, porém são esses compostos que apresentam grande atividade antioxidante, estimulante e diurética. A análise sensorial indica que os provadores preferem uma bebida mais suave, com sabor menos adstringente. Segundo Lesschaeve e Noble, (2005) a adstringência e amargor são frequentemente percebidos como atributos negativos, também em alimentos à base de soja, ainda que disponham de elementos nutracêuticos relevantes. Gostar destas características, além de uma questão individual, é um hábito.

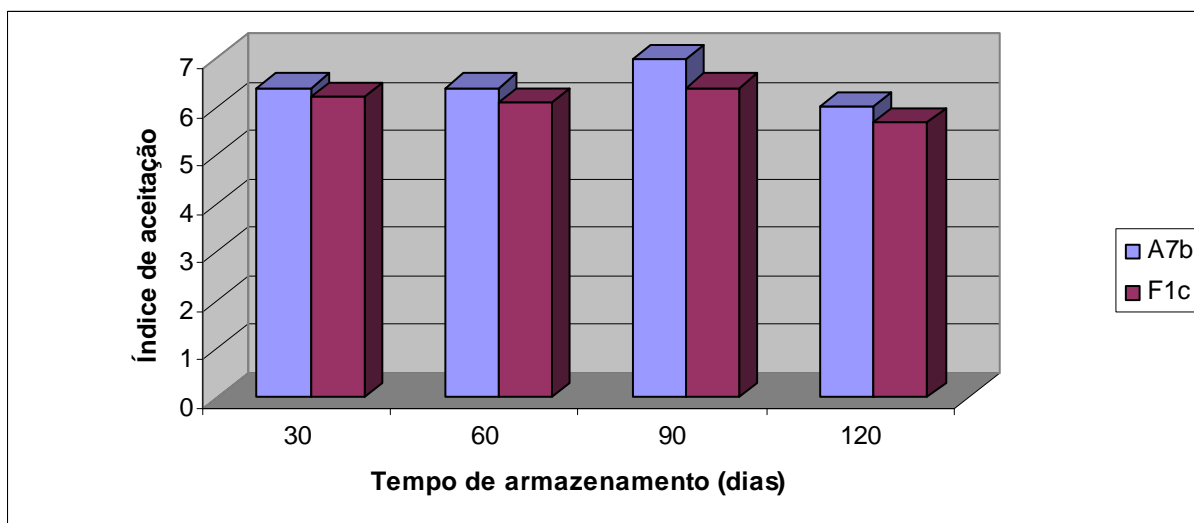


FIGURA 15 – ÍNDICE DE ACEITABILIDADE EM RELAÇÃO A FREQUÊNCIA DOS VALORES HEDÔNICOS ATRIBUÍDOS ÀS BEBIDAS A7b e F1c DURANTE O TEMPO DE ARMAZENAMENTO 9 (GOSTEI MUITÍSSIMO) E 1 (DESGOSTEI MUITÍSSIMO)

Com relação à intenção de compra, de forma geral, os valores médios para a bebida A7b e F1c ficaram entre 2,1 e 2,5 “Provavelmente compraria” demonstrando que esta nova formulação de bebida de extrato de erva-mate com soja apresentou aceitação para consumo pelos provadores e indicando boa aceitação para novos produtos.

## 5. CONCLUSÕES

O processamento empregado no trabalho foi eficiente para obtenção de bebida de extrato de erva-mate e soja. A aceitação sensorial superior foi para a bebida A7b (composta de menor concentração de extrato de erva-mate e baixo teor de EHS) com escore de 6,4 a 7,0 seguida da bebida F1c (com maior concentração de extrato de erva-mate e baixo teor de EHS) com valores variando de 6,1 a 6,4. Foi comprovada estabilidade dos parâmetros pH, acidez, viscosidade, compostos fenólicos e análise microbiológica durante o período de armazenamento de 120 dias sob refrigeração.

Os resultados obtidos para a composição centesimal da matéria prima nas duas progênes A7 (árvores plantadas com 12 anos de idade) e F1 (árvores nativas com idade de 80 anos), da Embrapa-Florestas apresentaram valores similares para, proteína (9,52 e 10,05 g/100g), lipídeos (6,30 e 8,13 g/100g), cinzas (5,77 e 5,70 g/100g) e umidade (7,04 e 7,01 g/100g), respectivamente. A atividade antioxidante pelo método ABTS (485,47  $\mu$ M Trolox/g de erva-mate), DPPH (IC<sub>50</sub> 38,64 g/g DPPH) e os compostos fenólicos, 5-CQA (19,32 mg/g), rutina (8,61 mg/g), ácido cafeico (0,09 mg/g) mostraram-se superiores na amostra A7. No entanto a amostra F1 foi superior em relação aos teores de metilxantinas, teobromina (0,48 mg/g) e cafeína (5,04 mg/g), ambas amostras apresentaram teores de compostos fenólicos superiores aos encontrados em vinho e chá verde.

Os extratos aquosos não diferiram estatisticamente entre si para análise da composição centesimal, compostos fenólicos e metilxantinas, já em relação à atividade antioxidante o extrato A7 apresentou resultados superiores pelo ABTS (14,15  $\mu$ M Trolox/mL de extrato) e DPPH (IC<sub>50</sub> 37,03 mL/g DPPH) em relação ao extrato F1, com valores de ABTS (9,41  $\mu$ M Trolox/mL de extrato) e DPPH (IC<sub>50</sub> 42,42 mL/g DPPH).

A bebida A7b de maior aceitação sensorial apresentou menor teor de cafeína (0,04 mg/mL), 5-CQA (0,18 mg/mL), atividade antioxidante em DPPH (IC<sub>50</sub> 147,1 mL/g DPPH) e ABTS (5,6  $\mu$ M Trolox/mL) frente aos valores obtidos para bebida F1c, ambas apresentando características de atividade antioxidante pela presença dos compostos fenólicos, equivalente ao fornecido na ingestão de mesma porção da bebida do chimarrão tradicional.

## REFERÊNCIAS

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION (APHA). **Compendium of methods for the microbiological examination of foods**. 4<sup>th</sup> ed. Washington, 2001.

ANDRADE, F. M. **Avaliação de biomassa, clorofila, cafeína e tanino em *Ilex paraguariensis*, crescendo sob sombreamento e pleno sol**. 83 f. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2004.

ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução n.389, de 5 de agosto de 1999. **Regulamento técnico que aprova o uso de aditivos alimentares, estabelecendo, suas funções e seus Limites máximos para a categoria de alimentos: Bebidas 18** –Subcategoria 16.2.2 – Bebidas não alcoólicas gaseificadas e não gaseificadas.

ANZALDÚA-MORALES, A. **La evaluacion sensorial de los alimentos em la teoria y la práctica**. Zaragoza: Acribia, 1994. 198p.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS (ABNT). **Métodos de análise sensorial dos alimentos e bebidas**. NBR 12994, p.2, 1993.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of the AOAC International**. 18<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, 2005.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of the AOAC International**. 19<sup>th</sup>. ed. Washington, D.C. 2002.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC). **Official methods of the AOAC International**. 17<sup>th</sup> ed. Gaithersburg, 2000.

BADI, H. N.; YAZDANI, D.; ALI, S. M.; NAZARI, F. Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme, *Thymus vulgaris* L. **Industrial Crops and Products**, v.19, p. 231-236, 2004.

BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, p.191-203, 2006.

BARBOZA, L. M. V. **Desenvolvimento de bebida à base de erva-mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire) adicionada de fibra alimentar..** 236 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos)- Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2006.

BASTOS, D. H. M.; FORNARI, A. C.; QUEIROZ, Y. S.; TORRES, E. A. F. S. Bioactive compounds content of chimarrao infusions related to the moisture of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) leaves. **Braz Arch Bio Tech**, v. 49, p. 399–404, 2006.

BASTOS, D. H. M.; OLIVEIRA, D. M.; MATSUMOTO, R. L. T.; CARVALHO, P. O.; RIBEIRO, M. L.; Yerba mate: Pharmacological properties, research and biotechnology. Medicinal and Aromatic Plant. **Science and Biotechnology**, v. 1, n.1, p. 37-46, 2007.

BEHRENS, J. H.; SILVA, M. A. A. P. Atitude do consumidor em relação à soja e produtos derivados. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 24, p. 431-439, 2004.

BIXBY, M.; SPIELER, L.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: A comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. **Life Sciences**, v. 77, p. 345-358, 2005.

BORTOLUZZI, A. L. M.; PASQUALATTO, R. P. R.; GUESSER, G.; CARDOSO JÚNIOR, E. L.; DONADUZI, C. M.; MITSUI, M. Quantificação de metilxantinas e compostos fenólicos em amostras comerciais de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St.Hil.). In: CONGRESO SUDAMERICANO DE LA YERBA MATE, 4., 2006, Posadas. **Anais...** Posadas: INYM, INTA, UNaM, EPAGRI, 2006. p. 143 - 147.

BRACESCO, N.; DELL, M.; ROCHA, A.; BEHTASH, S.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A.; NUNES, E. Antioxidant activity of a botanical extract preparation of *Ilex paraguariensis*, prevention of DNA double-strand breaks in *Saccharomyces cerevisiae* and human low-density lipoprotein oxidation. **Journal of Alternative and Complementary Medicine**, v. 9, n. 3, p. 379-387, 2003.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**. v. 28, p. 25-30, 1995.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº277, de 25 de setembro de 2005. Regulamento técnico para café, cevada, chá, erva-mate e produtos solúveis. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 23 set. 2005.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC n. 12, de 2 de Janeiro de 2001. Regulamento Técnico sobre Padrões Microbiológicos para Alimentos. **Diário Oficial da União**. Brasília, DF, 20 dez. 2000.

BRASIL, Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Legislação. Resolução CNNPA n.14, de 28 de junho de 1978. Aprova o regulamento técnico que estabelece os padrões de identidade e qualidade para farinha desengordurada de soja, proteína texturizada de soja, proteína concentrada de soja, proteína isolada de soja e extrato de soja. **Diário Oficial da União**, Brasília, 26 de junho de 1978.

BRAVO, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism and nutrition significance. **Nutrition Reviews**, v. 56, p. 317-33, 1998.

BRAVO, L.; GOYA, L.; LECUMBERRI, E. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. **Food Research International**. v. 40, p. 393–405, 2007.

BURGARDT, A. C. **Desenvolvimento de uma bebida utilizando extrato de erva-mate (*Ilex paraguariensis* ST. Hil.)**. 113 f. Dissertação (Mestrado) - Setor Tecnologia Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2000.

CABRAL, A.C.D.; FERNANDES, M.H.C. Aspectos gerais sobre a vida de prateleira de produtos alimentícios. **Boletim do ITAL**, Campinas, v.17, n.4, p.371-439, 1980.

CABRAL, L. C.; WANG, S. H.; ARAÚJO, F. B.; MAIA, L. H. Efeito da pressão de homogeneização nas propriedades funcionais do leite de soja em pó. **Revista Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.17, p.286-290, 1997.

CALVALCANTI, A. L.; FORTE, K. O.; SILVA, P. P.; RABELO, M. V. D.; PEREIRA, S. K. C.; FERNANDES, F. V. Determinação dos sólidos solúveis totais (°Brix) e pH em bebidas lácteas e sucos de frutas industrializados. **Pesq Bras Odontoped Clin Intergr**, João Pessoa. v. 6, n. 1, p. 57-64, 2006.

CANTERLE, L. P. **Erva-mate e atividade antioxidante**. 99 f. Dissertação (Mestrado) – Área de Concentração em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria, 2005.

CARDOZO, JR. E. L.; FERRARESE-FILHO, O.; CARDOZO-FILHO, L.FERRARESE, M.L.L.; DONADUZZI, C.M.;STURION, J.A. Methylxanthines and phenolic compounds contents in mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) progenies grown in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 20, p. 553-558, 2007.

CARDUCCI, C. N.; DABAS, P.C.; MUSE, J. O. Determination of inorganic cations by capillary ion electrophoresis in *Ilex paraguariensis* (St. H.), a plant used to prepare tea in South America. **Journal of AOAC International**, v. 83, n. 5, p. 1167-173, 2000.

CENI, G.C. **Oxidases de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil): Extração, estabilidade térmica e influência da exposição ao microondas**. 194 f. Dissertação (Mestrado) - Setor de engenharia de alimentos, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões, Erechim, RS, 2005.

CLIFFORD, M.N. Chlorogenic acids and other cinnamates—nature, occurrence and dietary burden. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 362–374, 1999.

CLIFFORD, M.N.; SCALBERT, A. Ellagitannins: occurrence in food, bioavailability and cancer prevention. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 79, p. 362 – 372, 1999.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. **Food Chemistry**, v. 35, p. 13-21, 1990.

COELHO, G. C.; RACHWAL, M. F. G.; DEDECEK, R. A.; CURCIO, G. R.; NIETSCHKE, K.; SCHENKEL, E. P. Effect of light intensity on methylxanthine contents of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 35, n. 2, p. 75-80, 2007.

CONTRERAS, P.D. **Desenvolvimento de bebida à base de subprodutos da indústria da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) e verificação de sua atividade antioxidante**. 82 f. Dissertação (Mestrado) - Setor de Tecnologia em Alimentos, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2007.

COWARD, L.; SMITH, M.; KIRK, M.; BARNES, S. Chemical modification of isoflavones in soyfoods during cooking and processing. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 68, n. 6, p.1486S-1491S, 1998.

DA CROCE, D. M.; FLOSS, P. A. Cultura da erva-mate no estado de Santa Catarina. Epagri, **Boletim Técnico**. Florianópolis, SC, n. 100, p. 81, 1999.

DE MORAIS, E. C.; STEFANUTO, A.; KLEIN, G. A.; BOAVENTURA, B. C. B.; ANDRADE, F.; WAZLAWIK, E.; DI PIETRO, P. F.; MARASCHIN, M.; SILVA, E. L. Consumption of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) improves serum lipid parameters in healthy dyslipidemic subjects and provides an additional LDL-cholesterol reduction in individuals on statin therapy. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, p. 8316–8324, 2009.

DURANTI, M. Grain legume proteins and nutraceutical properties. **Fitoterapia**, v. 77, p. 67-82, 2006.

DUTCOSKY, S.D. **Análise de alimentos**. 2 ed. Curitiba: Chamapagnat. 2007.239 p.

DUTRA, F.L.G.; HOFFMANN-RIBANI, R.; RIBANI, M. Determinação de compostos fenólicos por cromatografia líquida de alta eficiência isocrática durante estacionamento da erva-mate. **Química Nova**. v. 33, n.1, p. 119-123, 2010.

EFING, L.C.; CALIARI, T.K.; NAKASHIMA, T.; FREITAS, R.J.S. Caracterização química e capacidade antioxidante da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) **Boletim Ceppa**, Curitiba. v.27, n. 2, p. 241-246, 2009.

ESMELINDRO, M. C.; TONIAZZO, G.; WACZUK, A.; DARIVA, C.; OLIVEIRA, D. Caracterização físico-química da erva-mate: influencia das etapas de processamento industrial. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 193-204, 2002.

FACCIN, G. L.; VIEIRA, L. N.; MIOTTO, L. A.; BARRETO, P. L. M.; AMANTE, E. R. Chemical, sensorial and rheological properties of a new organic rice bran beverage. **Rice Science**, v. 16, n. 3, p. 226–234, 2009.

FELBERG, I.; ANTONIASSI, R.; DELIZA, R. Soy and Brazil nut beverage: processing, composition, sensory, and color evaluation. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 29, n. 3, p. 609-617, 2009.

FERRARI, E. Os potenciais da cadeia produtiva da erva-mate como fator de desenvolvimento regional sustentável do médio Alto Uruguai do Rio Grande do Sul. Santa Cruz do Sul: **Edunisc**, 2006.

FERREIRA, V. L. P.; ALMEIDA, T. C. A.; PETTINELLI, M. L. C. V.; SILVA, M. A. A. P.; CHAVES, J. B. P.; BARBOSA, E. M. M. **Análise sensorial: testes discriminativos e afetivos**. Campinas: SBCTA, 2000. 127 p.

FILIP, R.; LOPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, p. 774-778, 2001.

FILIP, R.; LOTITO, S. B.; FERRARO, G.; FRAGA, C. G. Antioxidant activity of *Ilex paraguariensis* and related species. **Nutrition Research**, v.20, p.1437-1446, 2000.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO). Soymilk and related products. In: **FAO Agricultura services bulletin n.97**. Technology of production of edible flours and protein products from soybeans. Rome, 1992.

FREITAS, A. M.; BUENO NETO, P. R.; BORGES, W. Determinação do shelf life de um produto alimentício com base em avaliações sensoriais. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DESENVOLVIMENTO DE PRODUTO, 2. 2000, São Carlos-SP. **Anais do Congresso Brasileiro de Desenvolvimento de Produto**, São Carlos: 2. p. 334-339.

GALLICE, W. C.; MESSERSCHMIDT, I.; PERALTA-ZAMORA, P. Caracterização espectroscópica multivariada do potencial antioxidante de vinhos. **Química Nova**, v. XY, p. 1-7, 2011.

GARCIA, M.C.; TORRE, M.; MARINA, M.L.; LABORDA, F. Composition and characterization of soybean and related products. **Critical Review of Food Science and Nutrition**, v. 37, n. 4, p. 361-391, 1997.

GENOVESE, M.I.; LAJOLO, F.M. Determinação de isoflavonas em derivados de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.21, n.1, p.86-93, 2001.

GNOATTO, S. C. B.; BASSANI, V. L.; COELHO, G. C.; SCHENKEL, E. P. Influência do método de extração nos teores de metilxantinas em erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St.Hil., Aquifoliaceae). **Química Nova**, v. 30, p. 304–307, 2007a.

GNOATTO, S. C.; DASSONVILLE-KLIMPT, A.; DA NASCIMENTO, S.; GALÉRA, P.; BOUMEDIENE, K.; GOSMANN, G.; SONNET, P.; MOSLEMI, S. Evaluation of ursolic acid isolated from *Ilex paraguariensis* and derivatives on aromatase inhibition. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 43, n.9, p.1865-1877, 2007b.

GONÇALVES, A. A.; LEINDECKER, T.; BIEDRZYCKI, A. Suco de uva em pó fortificado com ferro. **Alimentação e Nutrição**, v. 19, n. 2, p. 177-181, 2008.

GRIESHOP, C.M.; KADZERE, C.T.; CLAPPER, G.M.; FLICKINGER, E.A.; BAUER, L.L.; FRAZIER, R.L.; FAHEY JR., G.C. Chemical and nutritional characteristics of United States soybeans and soybean meals. **J. Agric. Food Chem.**, v. 51, p. 7684–7691, 2003.



GUGLIUCCI, A.; BASTOS, D. H. Chlorogenic acid protects paraoxonase 1 activity in high density lipoprotein from inactivation caused by physiological concentrations of hypochlorite. **Fitoterapia**, v. 80, p.138–142, 2009.

GUGLIUCCI, A.; BASTOS, D. H.; SCHULZE, J.; SOUZA, M. F. Caffeic and chlorogenic acids in *Ilex paraguariensis* extracts are the main inhibitors of AGE generation by methylglyoxal in model proteins. **Fitoterapia**, v. 80, p. 339–344, 2009.

GUGLIUCCI, A.; STAHL, A. J. Low density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. **Biochemistry & Molecular Biology International**, v. 35, p. 47–56, 1995.

HANSEL, F.A.; DOMINGOS, D. M.; LIMA, K. M. G.; PASQUINI, C. Moagem e sapeco/secagem em forno de microondas na classificação sensorial de erva-mate no infravermelho próximo. **Comunicado Técnico on line**. 203 – Embrapa Florestas. ISSN 1517-5030. Colombo- PR, Outubro, 2008.

HASLER, C. M. Functional foods: their role in disease in: developing new food products for a changing prevention and health promotion. **Food Technology**, v. 52, n. 2. p. 57-62, 1998.

HECK, I.; MEJIA, E. G. Yeda mate tea (*Ilex paraguariensis*): A comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, p. 138-151, 2007.

HECK, C. I.; SCHMALKO, M.; MEJIA, E. G. Effect of growing and drying conditions on the phenolic composition of mate teas (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v. 56, p. 8394-8403, 2008.

HOFFMANN-RIBANI, R. **Compostos fenólicos em erva-mate e frutas**. 137 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2006.

HOFFMANN-RIBANI, R.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Compostos fenólicos em chimarrão de erva-mate (*Ilex paraguariensi* L.) proveniente do Paraná, Brasil. **4º CONGRESSO SUDAMERICANO DE LA YERBA MATE**. Posadas-Misiones, Argentina. p. 110-115, 2006.

HUNTERLAB. **CIE L\* a\* b\* color scale**. Applications note v.8, n.7, 2008. Disponível em: <<http://hunterlab.com>> Acesso em: 05/01/2011.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (IBGE). Produção da extração vegetal e da silvicultura, 2009. Disponível em:<<http://www.ibge.gov.br>> Acesso em 10/02/2011.

INSTITUTO PARANAENSE DE DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL (IPARDES). **Valor da transformação industrial, segundo atividades econômicas - Paraná – 2008**. Disponível em: <<http://www.ipardes.pr.gov.br/modules/>> Acesso em 21/02/2011.

ITO, E.; CROZIER, A.; ASHIHARA, H. Theophylline metabolism in higher plants. **Biochim Biophys Acta**, v.1336, p. 323–30, 1997.

JAEKELI, L. Z.; RODRIGUES, R. DA. S.; SILVA, A.P.DA. Avaliação físico-química e sensorial de bebidas com diferentes proporções de extratos de soja e de arroz. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 30, p. 342-348, 2010.

JAISWAL, R.; SOVDAT, T.; VIVAN, F.; KUHNERT, N. Profiling and characterization by LC–MS<sup>n</sup> of the chlorogenic acids and hydroxycinnamoylshikimate esters in mate (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p.5471-5484, 2010.

KAWAKAMI, M.; KOBAYASHI, A. Volatile constituents of green mate and roasted mate. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 39, p. 1275–1279, 1991.

KAO, T. H.; WU, W. M.; HUNG, C. F.; WU, W. B.; CHEN, B. H. Anti-inflammatory effects of isoflavone powder produced from soybean cake. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 11068-11079, 2007.

KUSKOSKI, E. M.; ASUERO, A. G.; TRONCOSO, A. M.; MANCINI-FILHO, J.; FETT, R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**. v. 25, n. 4, p. 726-732, 2005.

LABBÉ, D. ; TÊTU, B.; TRUDEL, D.; BAZINET, L. Catechin stability of EGC- and EGCG-enriched tea drinks produced by a two-step extraction procedure. **Food Chemistry**. v. 111, p. 139–143, 2008.

LABUZA, T.; SCHIMDL, M. K. Accelerated shelf life testing of foods. **Food Technology**, v. 39, n. 9, p. 57-64, 1985.

LEE, R. Ask the doctor. Is it true that drinking Yerba mate can lower blood pressure and cholesterol? **Harvard Health Letter**, v.18, n. 4, p. 8, 2007.

LESSCHAEVE, I.; NOBLE, A. C. Polyphenols: factors influencing their sensory properties and their effects on food and beverage preferences. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 81, p. 330S-335S, 2005.

LI, H.; WANG, X.; LI, Y.; LI, P.; WANG, H. Polyphenolic compounds and antioxidant properties of selected China wines. **Food Chemistry**, v. 112, p. 454–460, 2009.

LIN, J. K.; LIN, C. L.; LIANG, Y. C.; LIN-SHIAU, S. Y.; JUAN, I. M. Survey of catechins, gallic acid, and methylxanthines in green, oolong, pu-erh, and black teas. **Journal Agric. Food Chem**, Easton. v. 46, n. 9, p. 3635-3642, 1998.

LÓPEZ, P.; ISOLABELLA, S.; ANESINI, C.; FERRARO, G.; FILIP, R. Estudio cualicuantitativo por HPLC de los principios activos presentes em los extractos de *Ilex paraguariensis* (yerba mate) em las diferentes etapas del procesamiento industrial. In: CONGRESO SUDAMERICANO DE LA YERBA MATE, 4., 2006, Posadas. **Anais...** Posadas: INYM, INTA, UNaM, EPAGRI, 2006. p. 116-121.

LUI, M. C. Y.; AGUIAR, L. C.; ALENCAR, M. S. Isoflavonas em isolados e concentrados protéicos de soja. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p. 206-212, 2003.

MACCARI JUNIOR, A. **Análise do pré-processamento da erva-mate para Chimarrão**. 199 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2005.

MARQUES, V.; FARAH, A. Chlorogenic acids and related compounds in medicinal plants and infusions. **Food Chemistry**, v. 113, p. 1370–1376, 2009.

MAU, J.; KO, P.; CHYAU, C. Aroma characterization and antioxidant activity of supercritical carbon dioxide extracts from Terminalia catappa leaves. **Food Research International**, v. 36, p. 97–104, 2003.

MAZZAFERA, P. Mate drinking: caffeine and phenolic acid intake. **Food Chem**, v. 60, p. 67–71, 1997.

MAZZAFERA, P. Caffeine, theobromine and theophylline distribution in *Ilex paraguariensis*. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v. 62, n. 2, p. 149 – 151, 1994.

MEILGAARD, M.; CIVILLE, G. V.; CARR, B. T. **Sensory Evaluation Techniques**, 4<sup>th</sup> ed. CRC Press: Boca Raton, FL, p. 448. 2007.

MELLO, A. C. B.; FREITAS, R.J.S.; WASZCZYNSKYJ, N.; KOEHLER, H.S.; WILLE, G. F. C.; BERTÉ, K. A. S. Bebida gaseificada de erva-mate verde. **Boletim Ceppa**, Curitiba. v. 27, n. 1, p. 19-26, 2009.

MERCADIL, J. C. **Desenvolvimento de bebida a base de “leite” de soja acrescida de suco de graviola**. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Setor de Ciência dos Alimentos, Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Araraquara – SP. 2006.

MESSINA, M. J.; LOPRINZI, C. L. Soy for breast câncer survivors: a critical review of the literature. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 3095S-3108S, 2001.

MILOCA, M. M.; LOBO, D. S.; MARTINS, R. S. Determinação dos principais atributos da logística de suprimento na agroindústria ervateira do Paraná. **Anais do IX simpósio de administração da produção, logística e operações internacionais**. IX Simpósio, 2006.

MINIM, V. P. R. Análise sensorial de alimentos. In: MINIM, Valéria P. R. **Análise sensorial: estudos com consumidores**. Viçosa: UFV, 2006. 225 p.

MIRANDA, D. D.; ARÇARI, D. P.; PEDRAZZOLI, J. JR.; CARVALHO, P.O.; CERUTTI, S. M.; BASTOS, D. H.; RIBEIRO, M.L. Protective effects of mate tea (*Ilex paraguariensis*) on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced DNA damage and DNA repair in mice. **Mutagenesis**, v. 23, n.4, p. 261–265, 2008.

MONTEIRO, C. L. B. **Técnicas de Avaliação sensorial**. 2. ed. Curitiba: Universidade Federal do Paraná, CEPPA, 1984. 101 p.

MORIN, P.; JIMÉNEZ-FLORES, R.; POULIOT, Y. Effect of processing on the composition and microstructure of buttermilk and its milk fat globule membranes. **International Dairy Journal**, v.17, p.1179-1187, 2007.

MOSIMANN, A.L.; WILHELM-FILHO, D.; SILVA E. L. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **Biofactors**, v. 26, p. 59–70, 2006.

NACZK, M.; SHAIDI, F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: occurrence, extraction and analysis. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 41, p.1523-1542, 2006.

NAIM, M.; GESTETNER, B.; BONDI, A.; BIRK, Y. Antioxidant and antihemolytic activities of soybean isoflavones. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 24, n. 6, p. 1174-1177, 1976.

OGUNTUNDE, A. O.; AKINTOYE, O. A. Measurement and comparison of density, specific heat and viscosity of cow's milk and soymilk. **Journal of Food Engineering**, v. 13, n. 3, p. 221-230, 1991.

OLIVEIRA, L. L. R. V.; BENELLI, E. M.; OTTO, W. B.; BRUZAMOLIN, C. D.; FRAIZ, F. C.; FERREIRA, F. M.; MASSON, M. L. Análise de viscosidade e pH de bebidas infantis comercializadas na região de Curitiba-PR. **Brazilian Oral Research**, v. 24, n. 1, p. 172-209, 2010.

OLTHOF, M.; HOLLMAN, P. C. H.; KATAN, M. B. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. **Journal of Nutrition**, v. 131, p. 66–71, 2001.

PAGLIOSA, C. M.; SIMASA, K. N.; AMBONI, R.D.M.C.; MURAKAMI, A. N. N.; PETKOWICZ, C. L. O.; MEDEIROS, J. D.; RODRIGUES, A. C.; AMANTE, E. R. Characterization of the bark from residues from mate tree harvesting (*Ilex paraguariensis* St. Hil.). **Industrial Crops and Products**, v. 32, p. 428–433, 2010.

PARK, Y. K.; AGUIAR, C. L.; ALENCAR, S. M.; MASCARENHAS, H. A. A.; SCAMPARINI, A. R. P. Conversão de Malonil- $\beta$ -glicosil isoflavonas em isoflavonas glicosiladas presentes em alguns cultivares de soja brasileira. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 2, p.130-135, 2002.

PEÑA, M.M.L.; SALVIA-TRUJILLO, L.; ROJAS-GRAU, M. A.; Martín-Belloso, O. Impact of high intensity pulsed electric field on antioxidant properties and quality parameters of a fruit juice–soymilk beverage in chilled storage. **LWT - Food Science and Technology**, v. 43, p. 872–881, 2010.

PERES, R. G. **Aplicações de CE-DAD e HPLC-DAD-ESI/MS na determinação de compostos fenólicos, metilxantinas e ácidos orgânicos em bebidas**. 179 f. Tese (Doutorado em Ciência de Alimentos) - Departamento de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas. Campinas, 2007.

PETERSON, J.; DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutr. Res.**, v.18, p. 1995–2018, 1998.

POTTER, R. M.; DOUGHERTY, M. P.; HALTEMAN, W. A.; CAMIRE, M. E. Characteristics of wild blueberry–soy beverages. **LWT**. v. 40, p. 807–814, 2007.

PRUDÊNCIO, E.; FALCÃO, L.D.; BODIGNON, L. M.T.; HAMAD, A.J.S.; BEBEDET, H.D. Elaboração de uma bebida a partir de extrato de soja (*Glycine max*) adicionado de soro de queijo e antioxidante. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 18, 2002, porto Alegre. **Anais....** Porto Alegre: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, 2002.

RATES, S. M. K. Metilxantinas. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 2. ed. Porto Alegre / Florianópolis: Editora Universidade / UFRGS / Editora da UFSC, p. 723-738, 2000.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia vegetal**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, S. A. 6. ed, 2001. 906 p.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology Medicine**. v. 26, p.1231–1237, 1999.

RESENDE, M. D. V.; STURION, J. A.; CARVALHO, A. P.; SIMEÃO, R. M.; FERNANDES, J. S. C. Programa de melhoramento da erva-mate coordenado pela embrapa-resultados da avaliação genética de populações, progênies, Indivíduos e clones. **Circular Técnica**, 43. ISSN 1517-5278. Colombo, 2000. 67p.

RIVAS, M.; GARAY, R. P.; ESCANERO, J. F.; CIA, P. ALDA, J.O. Soy milk lowers blood pressure in men and women with mild to moderate essential hypertension. **Journal of Nutrition**, v. 132, p. 1900-1902, 2002.

RIZZO, M.; VENTRICE, D.; VARONE, M. A.; SIDARI, R.; CARIDI, A. HPLC determination of phenolics adsorbed on yeasts. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 42, p. 46–55, 2006.

ROBARDS, K.; ANTOLIVIC, M. Analytical chemistry of fruit bioflavonoids. **The Analyst**, v. 122, p. 11R-34R, 1997.

ROBBERS, J.E.; SPEEDIE, M.K.; TYLER, V.E. **Farmacognosia e farmacobiotecnologia**. São Paulo: Premier, 1997. 372 p.

ROBBINS, R. J. Phenolic Acids in Foods: An Overview of Analytical Methodology. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 10, p. 2866-2887, 2003.

ROSENTHAL, A.; DELIZA, R.; CABRAL, L. C.; FARIAS, C. A. A.; DOMINGUES, A. M. Effect of enzymatic treatment and filtration on sensory characteristics and physical stability of soymilk. **Food Control Journal**, v. 14, p. 187-192, 2002.

ROSTAGNO, M. A.; MANCHÓN, N.; D'ARRIGO, M.; GUILLAMÓN, E.; VILLARES, A.; GARCÍA-LAFUENTE, A.; RAMOS, A.; MARTÍNEZ, J. A. Fast and simultaneous determination of phenolic compounds and caffeine in teas, mate, instant coffee, soft drink and energetic drink by high-performance liquid chromatography using a fused-core column. **Analytica Chimica Acta**. v. 685, p. 204–211, 2011.

RUFINO, M.S.M.; ALVES, E.R.; BRITO, E.S.; MORAIS, S.M.; SAMPAIO, C.G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F.D. Metodologia Científica: Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH. **Comunicado Técnico on line**. 127- Embrapa Agroindústria Tropical. ISSN 1679-6535. Fortaleza-CE, Junho, 2007.

SALDANÑA, M. D. A.; MOHAMED, R. S.; BAER, M. G.; MAZZAFERA, P. Extraction of purine alkaloids from maté (*Ilex paraguariensis*) using supercritical CO<sub>2</sub>. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 3804-3808, 1999.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J.A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. v. 76, p. 270-276, 1998.

SANTOS, K. A. **Estabilidade da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.) em embalagens plásticas**. 127f. Dissertação (Mestrado) - Setor Tecnologia Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2004.

SANTOS, R.I. Metabolismo básico e origem dos metabólitos secundários. In: SIMÕES, C.M.O.; SCHENKEL, E.P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L.A.; PETROVICK, P.R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 2<sup>o</sup> ed. Editora Universidade/UFRGS/Editora da UFSC, Porto Alegre/Florianópolis, 2004. p. 403-434.

SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. **J. Nutr.**, v. 130, p. 2073S-2085S, 2000.

SCHERER, R.; JANSSENS, M. J. J.; MARX, F.; URFER, P.; SCHNEIDER, E. Saponin content and quality-related traits of mass-selected yerba-maté (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) trees. **Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants**, v.12, p. 73-85, 2006.

SCHMALKO, M. E.; ALZAMORA, S. M. Color, chlorophyll, caffeine, and water content variation during Yerba Mate processing. **Drying Tech**, v. 19, n. 3 & 4, p. 599–610, 2001.

SCHUBERT, A.; ZANIN, F. F.; PEREIRA, D. F.; ATHAYDE, M. L. Annual variations of methylxanthines in *Ilex paraguariensis* A. St. Hil (Mate) samples in Ijuí and Santa Maria, State of Rio Grande Do Sul. **Quim Nova**, v. 29, p.1233–6, 2006.

SECRETARIA DE ESTADO DA AGRICULTURA DO ABASTECIMENTO (SEAB). **Análise da conjuntura agropecuária safra 2010/11- Soja**. Disponível em:<<http://www.seab.pr.gov.br>> Acesso em 10/04/2011.

SHAHIDI, F.; NACZK, M. **Phenolics in food and nutraceuticals**. Boca Raton: CRC Press, 2004. 576 p.

SILVA, M. S.; NAVES, M. M. V.; OLIVEIRA, R. B.; LEITE, O. S. M. Composição química e valor protéico do resíduo de soja em relação ao grão de soja. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 571-576, 2006.

SILVA, R. A.; MAIA, G. A.; COSTA, J. M. C.; RODRIGUES, M. C. P.; FONSECA, A. V. V.; SOUSA, P. H. M.; CARVALHO, J. M. Néctar de caju adoçado com mel de abelha: desenvolvimento e estabilidade. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 2, p. 348-354, 2008.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da Planta ao Medicamento**. 2 ed. Editora Universidade/UFRGS/ Editora da UFSC, Porto Alegre / Florianópolis, p. 387 – 415, 2000.

SIMÕES, C. M. O.; SPITZER, V. Óleos voláteis. In: SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELLO, J.C.P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia da planta ao medicamento**. 2º ed. Editora Universidade/UFRGS / Editora da UFSC, Porto Alegre / Florianópolis, p. 467 – 495, 2004.

STONE, H.; SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 2. ed. London: Academic Press.1993. 337 p.

STONE, H., SIDEL, J. L. **Sensory evaluation practices**. 2. ed. USA: Academic Press, Inc, 1985. 338p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Fisiologia vegetal**. 3 ed. Artmed, Porto Alegre, 2004. 719p.

UNACHUKWU, U. J.; AHMED, S.; KAVALIER, A.; LYLES, J. T.; KENNELLY, E. J. White and Green Teas (*Camellia sinensis* var. *sinensis*): Variation in Phenolic, Methylxanthine, and Antioxidant Profiles. **Journal of Food Science**, v. 75, n. 6, 2010.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). Composition of foods: fats and oils. In: USDA Handbook 8-4. USDA, Washington, DC. 1979.

VALDUGA, A. T.; BATTESTIN, V.; FINZER, J. R. D. Secagem de extratos de erva-mate em secador por atomização. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, n. 2, p. 184-189, 2003.

VALDUGA, E. **Caracterização química e anatômica da folha de *Ilex paraguariensis* Saint Hilaire e de algumas espécies utilizadas na adulteração do mate**. 119 f. Dissertação (Mestrado) – Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1995.

VELASQUEZ, M.T.; BHATHENA, S.J. Role of soy protein in obesity. **International Journal of Medical Science**, v. 4, p. 72-82, 2007.

VIDOR, M. A.; RUIZ, C. P.; MORENO, S. M.; FLOSS, P. A. Marcadores moleculares em estudos de caracterização de erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil): o sabor. **Ciência Rural**, v. 32, p. 415-420, 2002.

VISIOLI, F.; BORSANI, L.; GALLI, C. Diet and prevention of coronary heart disease: the potencial role of phytochemicals. Amsterdam. **Cardiovasc. Res.**, v.47, p. 419-425, 2000.

WANG, H. J.; MURPHY, P. A. Isoflavona content in commercial soybean foods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 42, p. 1666-1673, 1994.

WATT, B.; MERRIL, A. L. **Composition of foods**: raw, processed, prepared. Washington DC: Consumer and food economics research. Research Service, U.S. Department of Agriculture, 1999.

WILT, F. M.; MILLER, G. C. Seasonal variation of coumarin and flavonoid concentrations in persistent leaves of wyoming big sagebrush (*Artemisia tridentata* ssp. *wyomingensis* – Asteraceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 20, n.1, p. 53-67, 1992.



## **APÊNDICE**

## APÊNDICE 1

### TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

- a) Você está sendo convidado a participar de um estudo intitulado “Propriedades físico-química, sensoriais e estabilidade de uma nova bebida contendo extrato de erva-mate (*Ilex-paraguariensis* St. Hil.) e soja”. É através das pesquisas que ocorrem os avanços importantes em todas as áreas, e sua participação é fundamental.
- b) O objetivo desta pesquisa visa contribuir com a diversificação de derivados da erva-mate, avaliando a aceitabilidade desse produto frente a uma equipe de julgadores com interesse em produtos com nutrientes extras capazes de proporcionar benefícios à saúde.
- c) Caso você participe da pesquisa, será necessário comparecer ao Laboratório de Análise Sensorial Usina Piloto bloco B, do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da UFPR, uma vez por aproximadamente 20 minutos, na data combinada para provar as 2 bebidas de erva-mate com soja. A avaliação das características organolépticas e a aceitabilidade desses produtos serão avaliadas através dos órgãos dos sentidos humanos (visão, olfato e paladar) Não existe nenhum outro instrumento que possa reproduzir ou representar a resposta humana. Portanto, esta avaliação resulta em um fator importante para qualquer estudo sobre alimentos.
- d) Não há possibilidade de riscos para a saúde do provador, porque as bebidas serão preparadas conforme as normas de boas práticas de fabricação e serão realizadas as análises microbiológicas antes da avaliação.
- e) Contudo o benefício esperado é consequentemente, a união dos compostos presentes na erva-mate e na soja, ambos em um único produto trariam muitos benefícios à saúde do consumidor.
- f) Estão garantidas todas as informações que você queira, antes durante e depois do estudo. As pesquisadores Cátia Nara Tobaldini Frizon, estudante, mestranda em Ciência e Tecnologia de Alimentos (telefone pra contato (41) 3361-3208) e Rosemary Hoffmann Ribani, professora, Dr<sup>a</sup>. Ciência de Alimentos, (telefone pra contato (41) 3361-3151) que poderão ser contatados na usina piloto bloco A, do Programa de Pós-Graduação em Tecnologia de Alimentos da UFPR, das 7:30 as 11:30 e 13:30 as 17:30 de segunda a sexta-feira são os responsáveis pela pesquisa e poderão esclarecer eventuais dúvidas a respeito da mesma.
- g) A sua participação neste estudo é voluntária. Contudo, se você não quiser mais fazer parte da pesquisa poderá solicitar de volta o termo de consentimento livre esclarecido assinado.
- h) As informações relacionadas ao estudo poderão ser inspecionadas pelos pesquisadores que executam a pesquisa e pelas autoridades legais. No entanto, se qualquer informação for divulgada em relatório ou publicação, isto será feito sob forma codificada, para que a **confidencialidade** seja mantida.
- i) Todas as despesas necessárias para a realização da pesquisa não são da sua responsabilidade.
- j) Pela sua participação no estudo, você não receberá qualquer valor em dinheiro.
- k) Quando os resultados forem publicados, não aparecerá seu nome, e sim um código.
- l) Eu, \_\_\_\_\_ li o texto acima e compreendi a natureza e objetivo do estudo do qual fui convidado a participar. A explicação que recebi menciona os riscos e benefícios do estudo e os tratamentos alternativos. Eu entendi que sou livre para interromper minha participação no estudo a qualquer momento sem justificar minha decisão. Eu concordo voluntariamente em participar deste estudo.

\_\_\_\_\_  
(Assinatura do sujeito de pesquisa ou responsável legal)

\_\_\_\_\_  
Local e data

\_\_\_\_\_  
Responsável pela pesquisa  
Cátia Nara Tobaldini Frizon

## APÊNDICE 2

### ANÁLISE SENSORIAL DE BEBIDA À BASE DE ERVA-MATE

Nome: \_\_\_\_\_

Sexo: ( )M ( )F      Idade:( )<18 ( )18-25 ( )25-35 ( )35-45 ( )acima de 45

Você consome produtos à base de erva-mate? ( )sim ( )não

1. Avalie as amostras codificadas utilizando a escala abaixo para avaliar o quanto você gostou ou desgostou de cada amostra. Marque a posição que melhor reflita seu julgamento.

- 9. Goste muitíssimo
- 8. Gostei muito
- 7. Gostei moderadamente
- 6. Gostei levemente
- 5. Indiferente
- 4. Desgostei levemente
- 3. Desgostei moderadamente
- 2. Desgostei muito
- 1. Desgostei muitíssimo

N° da amostra: \_\_\_\_\_ Valor: \_\_\_\_\_

N° da amostra: \_\_\_\_\_ Valor: \_\_\_\_\_

2. Agora você vai avaliar a sua intenção de compra com base na tabela abaixo para cada amostra.

1	Certamente compraria
2	Provavelmente compraria
3	Tenho dúvidas se compraria
4	Provavelmente não compraria
5	Certamente não compraria

AMOSTRA	Nota Intenção de Compra

3. Outros comentários:

### APÊNDICE 3

**TABELA 1 – AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA DAS SEIS BEBIDAS DE CADA PROGÊNIE DE ERVA-MATE**

Bebidas	Análise		
	Coliformes 45°C UFC/g	Contagem de <i>Bacillus cereus</i> <10 UFC/mL	<i>Salmonella</i> spp em 25g
A7a	<10	<0,3	Ausência
A7b	<10	<0,3	Ausência
A7c	<10	<0,3	Ausência
A7d	<10	<0,3	Ausência
A7e	<10	<0,3	Ausência
A7f	<10	<0,3	Ausência
F1a	<10	<0,3	Ausência
F1b	<10	<0,3	Ausência
F1c	<10	<0,3	Ausência
F1d	<10	<0,3	Ausência
F1e	<10	<0,3	Ausência
F1f	<10	<0,3	Ausência
A7a	<10	<0,3	Ausência
A7b	<10	<0,3	Ausência
A7c	<10	<0,3	Ausência

## **ANEXO**

## ANEXO 1

## Extrato de Soja - Provesol FB

**MARCA:** PROVESOL FB

**DESCRIÇÃO**

PROVESOL FB é um extrato protéico obtido a partir da emulsão aquosa dos grãos descorticados de soja (não modificada geneticamente), submetido a tratamento térmico adequada para inativação dos fatores antinutricionais e microbiológicos. A fração solúvel é concentrada e, em seguida, seca por processo de spray-drying. É um produto protéico natural e indicado como complemento alimentar em dietas, como substituto do leite de origem animal, nas restrições de caráter fisiológica (lactose) ou religiosa (Kosher). Por sua alta solubilidade e sabor neutro, é recomendado como matéria-prima na fabricação de bebidas líquidas a base de soja. Devido ao controle de processo, o produto se torna estável às condições de envase asséptico. É isento de ingredientes adicionais e quaisquer aditivos químicos.

**APLICAÇÕES**

- Bebidas a base de soja
- Alimento em pó a base de soja

**BENEFÍCIOS**

- Pode substituir o leite animal
- 100% vegetal
- Isento de lactose, sacarose, caseína e glúten
- Produto não transgênico
- Alta solubilidade em água a temperatura ambiente (20°C - 40°C)
- Sabor neutro
- Ótima estabilidade podendo ser utilizado em envase asséptico
- Contém alta teor de isoflavonas

**COMPOSIÇÃO**

- Extrato de soja em pó

**DOSAGENS INDICATIVAS**

- Para bebida a base de soja original: 5 - 6%
- Para sucos a base de soja (ácidos): 1 - 1,5%
- Alimento em pó a base de soja: 6 - 7%

**INSTRUÇÕES DE USO**

Hidratar o produto em água, à temperatura ambiente, preferencialmente misturado ao açúcar e estabilizante. Em caso de dúvidas, consultar nossa equipe técnica de aplicação de produtos.

**INFORMAÇÕES TÉCNICAS E NUTRICIONAIS**

	COMPOSIÇÃO APROXIMADA DE PRODUTO		
	100g	20g	%VD*
Valor energético	486kcal	97kcal	5%
Carboidratos	18,5g	3,7g	1%
Proteína	44g	8,8g	12%
Gorduras totais	26g	5,2g	9%
Gorduras saturadas	3,9g	0,8g	4%
Gorduras trans	zero	zero	**
Coolesterol	zero	zero	zero
Fibra alimentar	1,5g	0,3g	1%
Sódio	36mg	zero	zero
Cálcio	127mg	25mg	3%
Ferro	4,5mg	0,9mg	6%

\*VD: Valor Diário de Referência com base em uma dieta de 2000kcal ou 8400kJ. Seus valores podem ser maiores ou menores dependendo das suas necessidades energéticas. \*\*VD não estabelecido.

**PADRÕES MICROBIOLÓGICOS**

Contagem padrão em placas	máx. 5 x 10 <sup>4</sup> UFC/g
Coliformes totais	máx. 10 NMP/g
Coliformes fecais	máx. 1 NMP/g
Bacillus cereus	máx. 5 x 10 <sup>2</sup> UFC/g
Salmonella	ausência em 25g
Bolores e leveduras	máx. 1 x 10 <sup>3</sup> UFC/g

**PROPRIEDADES**

Forma	Pó
Cor	Creme
Sabor e odor	Neutro
Solubilidade	Solúvel em água

Umidade	máx. 4%
Cinzas	máx. 6%

**FUNCIONALIDADE**

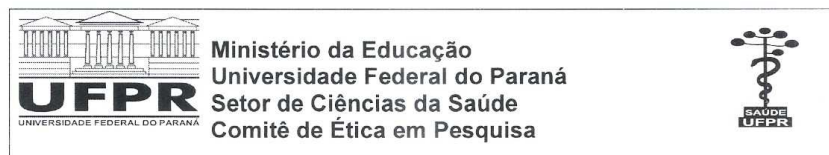
**EMBALAGEM**  
PROVESOL FB é acondicionada em saco de papel Kraft multifoldado e revestido internamente com saco de polietileno. Peso líquido: 25kg.

**ARMAZENAMENTO**  
PROVESOL FB deve ser estocado em sua embalagem original, sobre estrados em local seco e ventilado. Manter a embalagem corretamente fechada, quando não estiver em uso.

**PRazo DE VALIDADE**  
09 (nove) meses.

Divisão Industrial - Ingredientes Funcionais de Soja - Aplicação de Produtos - Fone 51 3499.9066

## ANEXO 2



Curitiba, 14 de junho de 2010.

Ilmo (a) Sr. (a)  
**Cátia Nara Tobaldini Frizon**  
Nesta

Prezado(a) Pesquisador(a),


Comunicamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **“Elaboração de bebida contendo extrato de erva-mate (*Ilex-paraguariensis* Saint Hilaire) e soja”** está de acordo com as normas éticas estabelecidas pela Resolução CNS 196/96, foi analisado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde da UFPR, em reunião realizada no dia 28 de abril de 2010 e apresentou pendência(s). Pendência(s) apresentada(s), documento(s) analisado(s) e projeto aprovado em 14 de junho de 2010.

Registro **CEP/SD:** 915.040.10.04      **CAAE:** 0024.0.091.000-10

Conforme a Resolução CNS 196/96, solicitamos que sejam apresentados a este CEP, relatórios sobre o andamento da pesquisa, bem como informações relativas às modificações do protocolo, cancelamento, encerramento e destino dos conhecimentos obtidos.

**Data para entrega do relatório final ou parcial: 14/12/2010.**

Atenciosamente



**Profª. Drª. Liliana Maria Labronici**  
Coordenadora do Comitê de Ética em  
Pesquisa do Setor de Ciências da Saúde